

**Hämagglutinationsreaktion
mit Hühnererythrozyten
bei Leberkrankheiten und Verschlusssikterus**

**von
Anton Pencz**

1936

Aus dem Elisabethenstift Darmstadt

Medizinische Klinik

Direktor: Prof. Dr. W. Siede

HÄMAGGLUTINATIONSSREAKTION MIT HÜHNERERYTHROZYTEN
BEI LEBERKRANKHEITEN UND VERSCHLUSSIKTERUS

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung des Doktorgrades
der gesamten Medizin

der hohen medizinischen Fakultät
der Johann Wolfgang Goethe-Universität
zu Frankfurt am Main

vorgelegt von
Anton Pencz
aus Gara / Ungarn

Frankfurt/M. 1966

Einleitung.

In der Diagnostik der Infektionskrankheiten haben sich heterospezifische serologische Tests als hilfreich erwiesen. Nachdem Hanganutziu (1924) und Deicher (1926) durch Einspritzen von Pferdeserum das Auftreten heterospezifischer Antikörper beobachten konnten, die dann zur Diagnose der Serumkrankheit verwendet wurden, konnten auch bei anderen Krankheiten vermehrt Heterohämagglutinine gefunden werden. Paul und Bunnell (1932) fanden im Serum von Patienten mit infektiöser Mononukleose Agglutinine gegen Hammelblutkörperchen. Zwar sollen solche Hammelblutagglutinine auch bei anderen Krankheiten mit starker lymphatischer Reaktion vermehrt vorkommen (Wolf), die Paul-Bunnell'sche Reaktion hat dennoch für die Diagnose des Pfeiffer'schen Drüsenfiebers große Bedeutung gewonnen. (7).

Hirst hat 1941 entdeckt, daß das Influenzavirus Hühnerblutkörperchen agglutinieren kann. In der Folgezeit hat man dann für viele Virusarten Hämagglutinationsreaktionen gefunden, z.B. für Mumps, New Castle Dis.-Virus, Hühnerpest, Schweineinfluenza, Vaccinia usw. Nach ihren gemeinsamen Merkmalen in der Hämagglutination ließen sich die Viren in verschiedene Gruppen einteilen. (7).

Diese beiden Phänomene, Hämagglutination bestimmter Tierblutkörperchen durch Heteroagglutinine und durch bestimmte Viren, erweckten die Hoffnung, auch für die Virushepatitis einen brauchbaren serologischen Test zu finden. Heteroagglutinine z.B. gegen Hammel-, Rinder-, Kaninchen-, Hühner- und Affenerythrozyten kommen auch im Serum von Gesunden, sowie von Patienten mit anderen Erkrankungen vor. Es galt demnach eine Spezies zu finden, deren Blutkörperchen nur durch Seren Hepatitiskrankter agglutiniert werden oder doch wenigstens bei einem höheren Titer agglutiniert werden, als durch Kontrollseren. Ein hoher Prozentsatz positiver Reaktionen bei Virushepatitis und geringe positive bei anderen Krankheiten und bei Gesunden sind die Bedingung für die Brauchbarkeit eines solchen Tests.

Hoyt und Morrison haben zur Reaktion Blutkörperchen von Macaca Rhesus verwendet und so in 74 % positive Ergebnisse bei Virushepatitis gefunden. Nachprüfungen durch einige Forscher konnten diese Ergebnisse zum Teil bestätigen (8,22,26), zum Teil wurden sie aber wieder in Frage gestellt, da der Test anderen Autoren zu unspezifisch erschien. Sie fanden zu wenig positive Befunde bei Virushepatitis und zu viele bei Kontrollseren. (12,14).

Morris und Nakamura, sowie Mc. Collum und Mitarbeiter fanden in vergleichenden Untersuchungen Blutkörperchen von ein Tag alten Küken geeigneter für einen Hämagglutinationstest mit Hepatitisserum, als Rhesusaffenerythrozyten (12,14).

In der Folgezeit wurde versucht, die Spezifität des Tests durch Variationen in der Methode zu verbessern.

Havens hat in der Annahme, daß im Serum unspezifische Agglutinine und Inhibitoren vorhanden seien, eine Anreicherung der beta- und gamma- Globuline durch Extraktion mit Aceton bei 4 ° C und danach mit Äther vorgenommen. Er erhielt in 70 % positive Ergebnisse bei Virushepatitis, in 12 % bei chronischen Erkrankungen der Leber, in 7 % bei Gesunden und keine positiven Hämagglutinationstiter bei Patienten mit Verschlußikterus. Die Ergebnisse von Havens konnten von Morris und Namakura, Thivolet und Dusouchet, sowie von Mc. Collum und Mitarbeitern bestätigt werden. Die Wirksamkeit des Extraktionsverfahrens ist jedoch von Frenger und Scheifarh (24) und von Jorke und Hoffmeier (26) bestritten worden. Letztere haben 9 verschiedene Methoden miteinander verglichen. Extraktionen nach Havens hatten nicht nur keinen positiven Effekt, sondern wirkten sich sogar im Sinne einer Verschlechterung des Ergebnisses aus.

Szécsey und Dóbiás (18) mühten sich durch Änderung der Versuchsbedingungen optimale Voraussetzungen für den Hämagglutinationstest zu finden. Sie variierten das PH und die Ionenzusammensetzung des Milieus, die Konzentration der Erythrozytensuspension sowie Zeit und Tempera-

tur der Inkubation. Sie fanden, daß der Test die besten Ergebnisse bei einem PH von 7,0, . den sie mit einem Phosphat-Borat-Puffersystem eingestellt hatten, mit einer 0,5 %igen Blutkörperchensuspension und bei einer 16-18 stündigen Inkubation der Versuchsansätze bei + 4° C aufweist. Die Ergebnisse, die Szécsey und Dóbiás mit dieser Methode erzielten, standen denen von Havens in keinem Punkte nach. Sie erhielten 72,6 % positive Titer bei akuter Virushepatitis, 12 % bei chronischen Lebererkrankungen, 3,8 % bei Verschlußikterus, 4,3 % bei anderen Erkrankungen der Leber und 2,9 % positive Hämagglutinationstiter bei anderen Krankheiten und bei Gesunden. Die Autoren konnten außerdem zeigen, daß der Test auch mit den Blutkörperchen erwachsener Hühner durchführbar ist.

Die Methode von Szécsey und Dóbiás zeichnet sich durch gute Resultate aus, sie ist billig und leicht routinemäßig im Laboratorium durchführbar.

In den eigenen Untersuchungen sollte das Verhalten der Seren von Patienten mit Erkrankungen der Leber, mit Verschlußikterus und einer Kontrollgruppe im Hämagglutinationstest (HAG-Test) mit Erythrozyten erwachsener Hühner ermittelt werden. Die Frage nach einer Bedeutung des Test in der Differentialdiagnose der Virushepatitis, insbesondere gegenüber dem Verschlußikterus, wurde neu gestellt. Weiterhin sollte das Verhalten des HAG-Test im Vergleich zu anderen Lebertests untersucht werden.

Material

Als Material zu den vorliegenden Versuchen dienten Blutseren von Patienten mit Erkrankungen der Leber, mit Verschlúßikterus und Kontrollseren. Insgesamt wurden 460 Seren auf ihre Fähigkeit, Hühnerblutkörperchen agglutinieren zu können, untersucht. Darunter waren 158 Seren von 58 Patienten mit akuter Virushepatitis, Seren von 27 Patienten mit Hepatitis chronica, 48 mit Cirrhosis hepatis, 10 mit Steatosis hepatis, 46 mit Verschlúßikterus, sowie zur Kontrolle 74 Seren von Patienten mit inneren und chirurgischen Erkrankungen außerhalb der Leber und von Blutspendern.

Die Seren wurden unter Berücksichtigung der von Szécsey und Dóbiás gefundenen Ergebnisse über die Thermo-resistenz des Hämagglutinins entweder am Tage der Blutentnahme selbst oder aber spätestens zwei Wochen nach Aufbewahrung bei $+ 4^{\circ} \text{C}$ verwandt.

Die Hühnerblutkörperchen wurden am Tage oder am Vorabend des Versuchs durch Flügelvenen-Funktion oder Herzpunktion erhalten, in ACD - Lösung ungerinnbar gemacht und bis zum Versuche kühl aufbewahrt.

Das Alter der Spendertiere lag zwischen ein und zwei Jahren.

Methode

Das ACD - Blut wurde 5 Minuten lang bei 2000 U/sec. zentrifugiert und das Plasma verworfen. Die Blutkörperchen wurden mit einem Sörensen - Puffer vom $\text{PH} = 7$ durch dreimaliges Waschen plasmafrei gemacht. Das beim drittenmal durch zehn Minuten langes Zentrifugieren erhaltene Sediment wurde zu einer 0,25 %igen Erythrozytenaufschwemmung resuspendiert, wieder mit einem Sörensen-Puffer vom $\text{PH} = 7$.

Das Probandenserum wurde bei 56°C 30 Minuten lang inaktiviert. Mit dem inaktivierten Serum wurde dann mit

demselben Puffer eine Verdünnungsreihe zu je 0,5 ml mit dem Quotienten $1/2$ angesetzt. (1:2, 1:4, 1:8 1:512). Zu jeder Serumverdünnung wurden 0,5 ml der Blutkörpersuspension gegeben, nach kräftigem Schütteln im Kühlschrank bei $+4^{\circ}\text{C}$ für 16 - 18 Stunden inkubiert und dann abgelesen.

Als positiv wurden alle Reaktionen gewertet, die nach 16 - 18 Stunden bei einem Titer von 1:128 und darüber eine makroskopisch noch deutlich erkennbare Hämagglutination zeigten.

Ergebnisse bei Kontrollseren

Im Rahmen des klinischen Untersuchungsganges wurden zur Ausschaltung von Lebererkrankungen bei vielen Kontrollseren Lebertests durchgeführt. So konnten drei Fälle mit pathologischen Befunden eliminiert werden. Es fällt auf, daß zwei dieser Fälle in ihrem Serum pathologische Hämagglutinationstiter (HAG-Titer) aufwiesen (Fall 178, 183, 194). Bei diesen beiden Patienten lagen Infektionen der Gallenwege vor. Aus der Anamnese war keine durchgemachte Virushepatitis eruierbar.

Bei 69 der 74 getesteten Kontrollseren konnten Hämagglutinine gegen Hühnererythrozyten nachgewiesen werden. Die Konzentrationen schwankten zwischen Titern von 1:2 und 1:256. Die meisten Seren agglutinierten jedoch nur bis zu einer Serumverdünnung von 1:32. Dieser Titer stellt gleichzeitig den Gipfel der prozentualen Verteilungshäufigkeit dar, wie sie in Abb. 1 in einer Säulendarstellung gezeigt wird. Man erkennt in dieser Darstellung, daß die Wahrscheinlichkeit, bei Normalseren über 1:32 noch Hämagglutinine zu finden, mit steigenden Titern immer geringer wird. Das arithmetische Mittel der Verteilung liegt bei einer HAG-Konzentration von $-^2\log \text{ Titer } 4,3$ (s. Abb. 1).

In den vorliegenden 74 Untersuchungen an Kontrollseren waren nur noch 5 HAG-Titer über 1:64. Davon agglutinierten 4 bei einem Titer von 1:128 und ein Serum noch bei 1:256. Bei diesem hochtiterigen Kontrollserum handelte es sich um einen Blutspender, der mit einer GPT-Aktivität von 36 Wroblewski-Einheiten etwas oberhalb der Grenze des Normalbereiches lag (GPT normal 5 bis 35 Wr.E.). Die übrigen 4 Fälle mit positiven Reaktionen verteilten sich auf einen Blutspender, einen Fall mit Postcholecystektomiesyndrom bei Graviditas (mens II) und zwei Patienten mit chirurgischen Erkrankungen. Hepatitis war in der Anamnese dieser Patienten nicht angegeben.

Abbildung 1: Häufigkeitsverteilung der HAG- Titer bei Kontrollseren

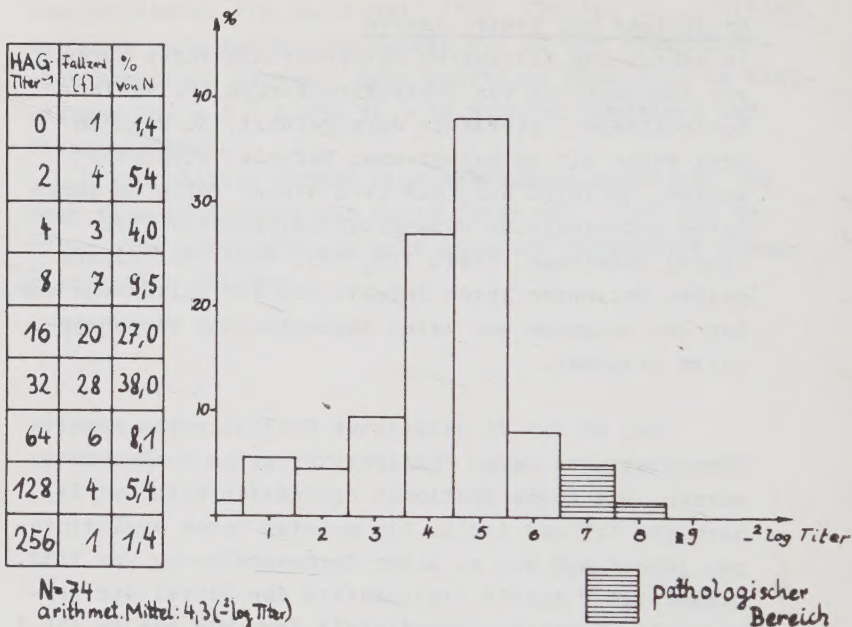
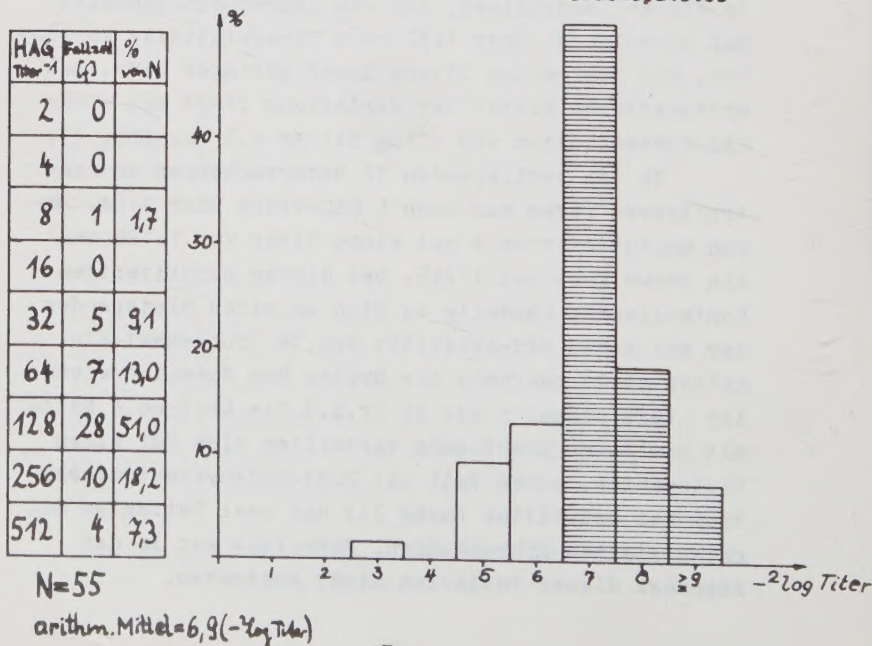


Abbildung 2: Häufigkeitsverteilung der HAG- Titer bei akuter Virushepatitis



Die Konzentration der Hämagglutinine bei Kontrollseren lag somit in über 95 % der untersuchten Fälle unterhalb des Titers 1:128. Deshalb und wegen der Art der Konzentrationsverteilung bei Hepatitis (s.u.) wurden Hämagglutinationstiter von 1:128 und darüber, in Übereinstimmung mit Szécsey und Dóbiás, als pathologisch angenommen.

Ergebnisse bei akuter Virushepatitis

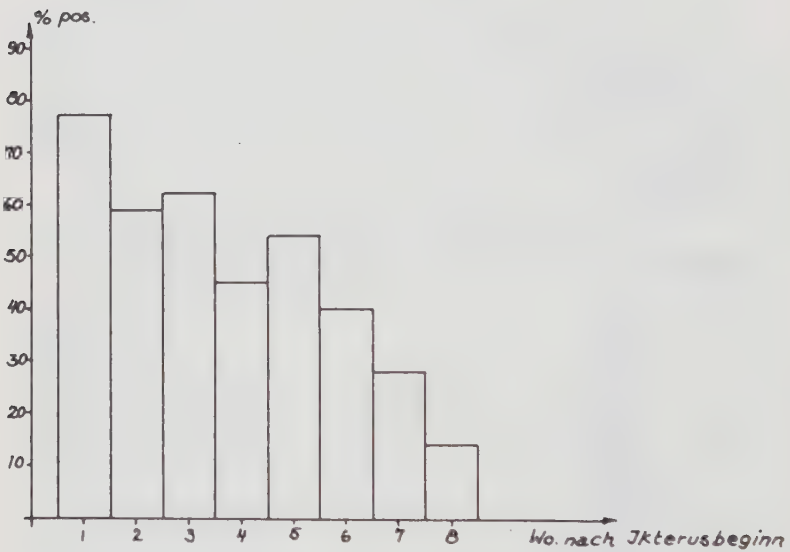
Die prozentuale Verteilung der Häufigkeiten von HAG-Titern bei 55 Patienten mit akuter Hepatitis zeigt ihren Gipfel bei 1:128 (Abb. 2). Das arithmetische Mittel der Verteilung liegt bei $-^2\log$ Titer 6,9, also 2,6 Titerstufen rechts vom Mittelwert bei Kontrollseren. 42 Hämagglutinationstiter waren höher als 1:64, das sind 76 % der getesteten Fälle. Bei mehrfachen Untersuchungen von Seren eines Patienten wurde der jeweils höchste HAG-Befund gezählt.

Die Untersuchungen wurden zu verschiedenen Zeitpunkten der Erkrankung, meist während der ikterischen Phase, einige aber auch noch in der postikterischen Phase durchgeführt.

Die meisten Fälle wurden mehrmals in regelmäßigen Zeitabständen untersucht. In der Regel war dabei eine Abnahme der HAG-Titer zu finden. Einige, anfangs deutlich erhöhte Titer waren schon in der 2. oder 3. Woche wieder im Normalbereich bis 1:64 (Fälle 66, 153, 202, 221)*, während andere über viele Wochen im pathologischen Bereich persistierten, um dann meist ebenfalls abzufallen (Fälle 70, 87, 97, 91, 134, 137)*. Dieses Verhalten der HAG-Reaktionen im Krankheitsablauf einzelner Patienten läßt erwarten, daß bei Reihenuntersuchungen mit Seren Hepatitiskranker umso häufiger pathologische HAG-Titer vorkommen, je früher die Untersuchungen durchgeführt werden. Abb. 3 zeigt, daß die Häufigkeit pathologischer Titer mit dem Abstand der Untersuchung vom Tage des Ikterusbeginns tatsächlich abnimmt. Der Ikterusbeginn wurde als Bezugspunkt gewählt,

* Tabelle I im Anhang.

Abbildung 3: Positive HAG- Titer im Abstand der Untersuchung vom Ikterusbeginn bei akuter Virushepatitis



weil er anamnestisch zuverlässiger ermittelt werden kann, als der Tag des Krankheitsbeginns. Die uncharakteristischen Prodromalerscheinungen werden von den Patienten oft verschieden beachtet und bewertet. Die Titermittelwerte sind ebenfalls in der ersten Ikteruswoche am höchsten, bleiben dann aber nach einer geringen Abnahme in den folgenden Wochen relativ konstant (Tab. 1 u. 2).

Tabelle 1

Wochen nach Ikt.-Beginn	Fall- zahl (f)	positive	
		Anzahl	% von (f)
1.	13	10	77
2.	22	13	59
3.	24	15	62
4.	20	9	45
5.	13	7	54
6.	10	4	40
7.	7	2	29
8.	7	1	14

Abhängigkeit des HAG-Testes vom Abstand der
Untersuchung vom Ikterusbeginn.

Tabelle 2

Wochen nach Ikt.-Beginn	Fall- zahl (f)	$\bar{X}$
1.	13	7,0
2.	22	6,0
3.	24	6,0
4.	20	6,4
5.	13	6,4
6.	10	5,6
7.	7	5,7
8.	7	6,0

Abhängigkeit der Mittelwerte der HAG-Titer
vom Abstand der Untersuchung vom Ikterusbeginn
 $\bar{X} = -^2\log \text{ Titer (Mittelwert)}$

Das schnelle Abklingen oder Persistieren der HAG-Titer scheint keinen Schluß auf die Prognose der Erkrankung zuzulassen.

Im Folgenden werden drei Fälle demonstriert, die in gleicher Weise über viele Wochen persistierende hohe HAG-Titer aufwiesen, die aber ganz unterschiedliche Krankheitsverläufe hatten.

(Fälle: 91, 87, 97)*.

Fall 91 (Abb. 4)

Die Patientin G.E., 45 Jahre alt, wird nach kolikartigen Schmerzen im Oberbauch bei Verfärbung von Stuhl und Urin aufgenommen. Die Befunde bei der Aufnahme lassen die Möglichkeit eines extrahepatischen Verschlußikterus noch offen. Die Leber ist am Rippenbogen tastbar und deutlich druckschmerzhaft, die Milz nicht palpabel. Lakatol (nach Mancke-Lommer) 70 mg% HgCl_2 , Thymol 10 Trübungseinheiten (nach Mac Lagan), GOT 260 Wr.E., GPT 340 Wr.E., Serumbilirubin (gesamt/direkt) 6,1/4,1 mg/10ml. Die van den Berg'sche Probe ist positiv. Die alkalischen Serumphosphatasen 7,7 nmol Einheiten, Elektrophorese (rel.%) Albumine 49,0 Globuline: alpha 1 3,0, alpha 2 : 9,0; beta. 12,0; gamma: 24,0. Gesamteiwert 7,35 g%.

In den folgenden Wochen offenbaren die sehr starke Erhöhung der Transaminasenaktivitäten bei gleichzeitigem Anstieg des Bilirubins und zurückgehen der alkalischen Serumphosphatasen die akute virus-epatitis. Auf die Behandlung mit Bettruhe, Leberdiät, Traubenzucker- und Elektrolytinfusionen, Ledermycin und Decortilen kehrt das Bilirubin zwar in den Normbereich zurück, die pathologische Serumtransaminasenaktivität aber persistiert über viele Monate. Im vierten Monat der stationären Behandlung wird durch Laparoskopie und Biopsie eine akute persistierende Hepatitis mit fleckförmigen Verfettung der Leberepithelien festgestellt.

* Details im Anhang.

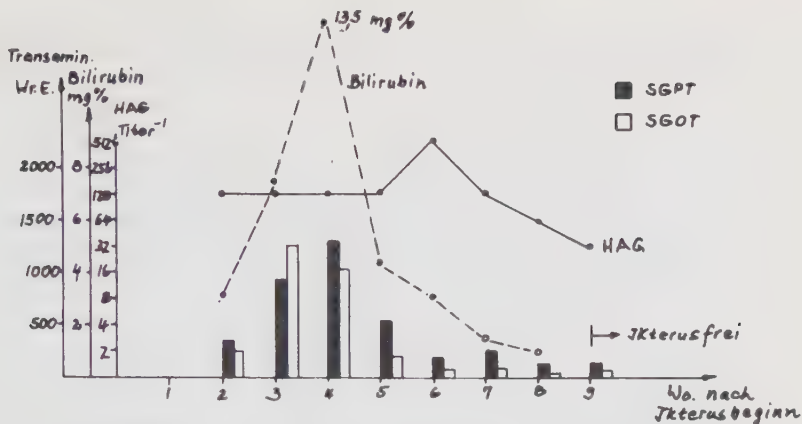


Abbildung 4: HAG-Reaktion, Transaminasenaktivität und Serumbilirubinspiegel bei einer persistierenden Virushepatitis.

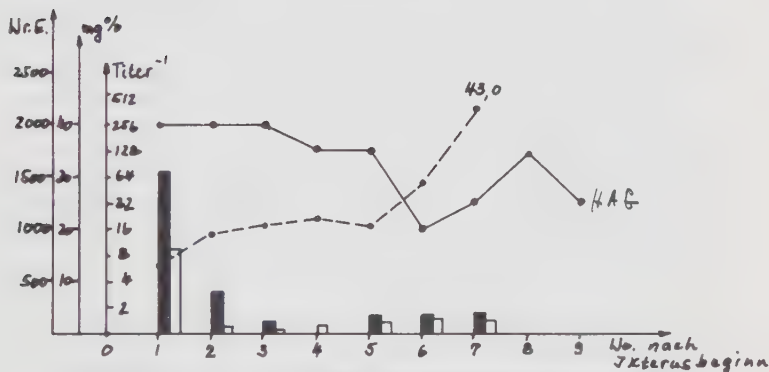
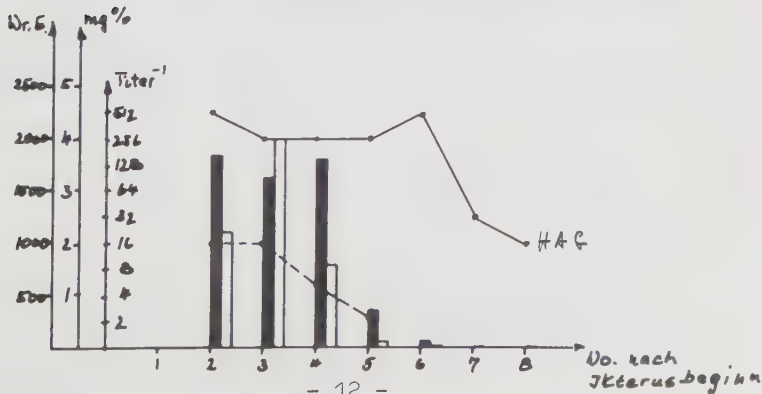


Abbildung 5: HAG-Reaktion, Transaminasenaktivität und Serumbilirubinspiegel bei einer Virushepatitis mit subakuter Lebernekrose.

Abbildung 6: HAG-Reaktion, Transaminasenspiegel, Bilirubinwerte bei einer akuten Virushepatitis mit normaler Verlaufsform.



Fall 87 (Abb. 5)

Der Patient O.K., 76 Jahre alt, wird vier Tage nach Auftreten einer Gelbsucht aufgenommen. Schmerzen bestehen nicht. Die Vorgeschichte macht eine Serumhepatitis wahrscheinlich. Der pathologische Tastbefund von Leber und Milz sowie der typische Ausfall der Lebertests bestätigen eine akute Virushepatitis. Der weitere, besonders maligne Verlauf, spricht für eine subakute Lebernekrose. Prednisolon, anfangs per os, später i.v., schließlich in einer Dosierung von 300 mg/die gegeben, beeinflussen das Krankheitsbild nicht. In der 5. Woche treten Leberinsuffizienzzeichen auf, Mattigkeit, Schläfrigkeit und ein zunehmender foetor hepaticus. Zwei Tage später tritt exitus letalis durch Kreislaufversagen ein. Die Sektion wurde von den Angehörigen des Verstorbenen verweigert.

Fall 97 (Abb. 6)

Die Patientin M.C., 26 Jahre alt, erkrankt an einer akuten Virushepatitis mit geringer Bilirubinerhöhung, ausgeprägter Erhöhung der Serumtransaminasenaktivität und deutlichem Leber- und Milztastbefund. Die Erkrankung verläuft völlig komplikationslos. Der Serumbilirubinspiegel ist drei Wochen nach Aufnahme wieder unter 1 mg%, zwei Wochen später sind auch die Transaminasenaktivitäten normal. Die Patientin kann mit vollkommen normalen blutchemischen Befunden entlassen werden. Die Leber ist nicht mehr vergrößert und nur noch wenig konsistenzvermehrt, die Milz nicht mehr palpabel.

Es wurde weiterhin das Verhalten der HAG-Titer mit dem Verhalten anderer blutchemischer Untersuchungsergebnisse verglichen.

Sowohl bei niedrigem als auch bei hohem Serumbilirubinspiegel findet man positive Hämagglutinationsreaktionen. Eine direkte Abhängigkeit der beiden Tests voneinander besteht also nicht. Vergleicht man jedoch die prozentuale Häufigkeit der positiven HAG-Reaktionen bei verschiedenen Serumbilirubinwerten, so zeigt sich, daß diese bei hohem Bilirubinspiegel größer ist als bei niedrigem. Diese Korrelation könnte möglicherweise nur Ausdruck dafür sein, daß beide Tests ungefähr in der gleichen Phase der Erkrankung maximal pathologische Werte aufzuweisen und dann in ähnlicher Weise abzuklingen pflegen. Es ist bekannt, daß bei benignem Verlauf der Hepatitis der Serumbilirubinspiegel in den meisten Fällen sehr bald sein Maximum erreicht und dann ziemlich rasch abfällt. In der Tabelle 2 werden nur solche Fälle miteinander verglichen, die in den ersten drei Ikteruswochen untersucht worden waren. Die größere Häufigkeit der positiven HAG-Titer bei höheren Bilirubinwerten bleibt auch hier erhalten.

Bilirubin mg %	Zahl (f) d. Seren	pos. HAG-Titer	
		Anzahl	% von (f)
über 10,0	22	14	64
5,1 - 10,0	14	10	71
1,0 - 5,0	37	16	43
bis 0,9	16	5	31

Tabelle 1

Positive HAG-Titer bei fallenden Serumbilirubinwerten.

<u>Bilirubin</u> mg %	<u>Zahl der Seren in der</u>				<u>Zus.</u>	<u>HAG-Titer pos.</u>	
	1.	2.	3.	<u>Ikt. Woche</u>	(f)	Anzahl	% v. f
1,0 - 5,0	3	8	5		16	10	62
über 5,0	5	7	7		19	17	89

Tabelle 2

Positive HAG-Titer in der 1. - 3. Ikteruswoche bei niedrigeren und höheren Bilirubinwerten.

Auch bei Seren, die nach der 3. Ikteruswoche untersucht wurden, waren positive Titer bei höheren Bilirubinwerten häufiger.

Der Zusammenhang zwischen hohem Serumbilirubinspiegel ($>5\text{mg \%}$) und positivem HAG-Test ist allerdings weder für die in Tabelle 1 noch für die in Tabelle 2 gefundenen Zahlenwerte signifikant (Berechnung siehe Seite 58).

Beim Vergleich der HAG-Reaktion mit der Glutamat - Pyruvat - Transaminasenaktivität ergibt sich ebenfalls keine direkte Beziehung. Unter 12 Seren mit GPT über 1600 Wr.E. waren jedoch 11 positiv (Tab. 3). 10 von diesen 12 Seren wurden innerhalb der ersten 3 Ikteruswochen auf ihre Agglutinationsfähigkeit hin untersucht. Das eine negative Serum mit GPT von 1664 Wr.E. war in der 8. Ikteruswoche untersucht worden. Bei niedrigeren GPT-Werten wurde keine entsprechende Abnahme der Häufigkeiten positiver HAG-Titer deutlich. Unter 8 Seren allerdings, bei denen sich die GPT-Aktivitäten wieder normalisiert hatten, waren auch alle 8 HAG-Titer im Normalbereich.

GPT	Zahl (f)	pos. HAG-Titer	
Wr.E	der Seren	Anzahl	% von (f)
über 1600	12	11	92
800 - 1600	35	17	49
400 - 799	18	8	44
200 - 399	24	12	50
100 - 199	25	9	33
36 - 99	14	6	43
bis 35	8	0	0

Tabelle 3

Positive HAG-Titer bei fallenden GPT-Aktivitäten.

Soweit die HAG-Titer lange genug verfolgt wurden, ist aus der Tabelle I* erkennbar, daß die meisten pathologischen HAG-Titer vor, vier gleichzeitig mit der Normalisierung der Transaminasenaktivitäten zurückgingen, (Fall 97, 101, 133, 134).

Quantitative Veränderungen der Eiweißfraktionen bei der Serumelektrophorese lassen keine Beziehungen zur HAG-Reaktion erkennen. In der Tabelle 4 zeigen von 13 Fällen mit gamma - Globulinfraktionen von ≥ 23 rel. % 9 Fälle positive HAG-Titer, während unter 12 Patienten mit gamma-Globulinwerten < 23 rel. % 10 (= 83,3 %) mit positiven HAG-Titern sind.

Auch zwischen Serumlabilitätsproben (Takata nach Mancke-Sommer, Thymoltrübungstest) und HAG-Test sind keine Beziehungen erkennbar. (s. Tab. 4)

Für die Auswertung der Tabelle 4 (S. 17) gelten folgende Normalwerte:

Elektrophorese

Albumine:	53 - 63 rel. %
Globuline:	alpha 1-: 2 - 5 rel. %
	alpha 2-: 6 - 10 rel. %
	beta- : 9 - 14 rel. %
	gamma- : 14 - 21 rel. %

* im Anhang

Normalwerte:HAG-Titer $^{-1}$

bis 64

Takata (nach Mancke-Sommer)
(pathol. ≤ 50)100 bis 70 mg% HgCl_2

Thymol (Trübungseinheiten)

bis 4 Tr.E.

Serum Nr.	HAG-Titer	Elektrophorese				Takata Thymol				
		Alb. Globuline								
		α_1	α_2	β	γ					
10	32	51,0	4,0	6,0	17,0	22	60	7		
24	2	48,0	4,0	7,0	10,0	31	30	26		
83	128	56,0	4,5	6,5	13,0	20	60	7		
89	128	46,0	4,0	6,0	14,0	30	40	35		
90	256	47,0	4,0	7,0	11,0	31	30	24		
114	256	47,0	3,0	5,5	8,5	36	40	13		
130	128	57,0	4,0	9,0	11,0	19	80	11		
131	128	53,5	5,5	9,0	12,0	20	60	7		
134	128	50,0	5,0	7,0	12,0	26	50	23		
162	64	48,0	4,0	8,0	13,0	27	70	13		
182	512	56,0	5,0	7,0	12,0	20	90	6		
183	128	49,0	4,0	5,0	9,5	32,5	40	14		
188	128	53,5	3,5	7,0	14,0	22	80	10		
194	64	51,5	4,0	0,0	13,5	21	90	10		
207	64	46,0	5,0	0,5	12,5	26	50	19		
214	128	55,5	3,5	7,0	13,0	21	80	11		
230	4	49,0	3,0	8,0	14,0	26	60	22		
264	128	49,0	3,0	9,0	11,0	28	50	34		
294	128	54,0	4,0	1,0	12,0	19	80	13		
302	128	59,0	5,0	7,5	9,5	19	90	8		
303	256	56,0	3,0	7,0	12,0	22	80	11		
327	128	50,0	4,5	8,5	14,0	23	70	10		
338	128	46,0	5,0	0,5	13,5	25,5	70	12		
378	128	60,0	4,0	7,0	13,0	16,0	70	19		
120	256	49,0	6,0	9,0	12,0	24,0	70	10		
Positive:	19	17				8				25

Tabelle 4

25 HAG-Tests im Vergleich zu gleichzeitig erhobenen Elektrophoresewerten, sowie Takata- und Thymolreaktionen.

Ergebnisse bei Cirrhosis hepatis

Unter 48 Patienten mit laparoskopisch und histologisch gesicherter aktiver Cirrhosis hepatis zeigten 20 Fälle HAG-Titer von 1:128 und darüber, das sind 42 %.

Bei wahrscheinlich posthepatitischen Lebercirrhosen wurden positive HAG-Titer nicht häufiger gefunden, als bei Cirrhosen unbekannter Ätiologie. 8 von 19 Fällen mit "Hepatitis" oder mit "Gelbsucht" in der Anamnese und 7 von 18 ohne "Hepatitis" oder "Gelbsucht" zeigten positive HAG-Titer.

Auch war die prozentuale Häufigkeit positiver HAG-Titer bei postnekrotischen Lebercirrhosen nicht häufiger, als bei den übrigen Formen der Lebercirrhose (Tab. 5). Eher entsteht in unserem Material der gegenteilige Eindruck.

Form der Lebercirrhose	Fallzahl (f)	pos. HAG-Reakt.	
		Anzahl (n)	% von (f)
1. postnektrotische	37	11	30
2. nicht genau geklärte Formen	2	2	
3. nicht postnek- rotische Formen	9	7	
$\Sigma f = 48$		$\Sigma n = 20$	42 %

Tabelle 5: Positive HAG-Reaktion bei Lebercirrhose

Unter den 9 nicht postnekrotischen Formen waren 5 portale Cirrhosen. 4 davon zeigten pathologische HAG-Titer.

Bei einem Fall lag eine portal dekompensierte, sekundäre biliäre Cirrhose mit einem HAG-Titer von 1:128 vor. Außerdem waren unter dem Untersuchungsmaterial Serien von 2 Patienten mit primärer biliärer Cirrhose. Der eine Patient zeigte einmal einen Titer von 1:8 und Wochen später im Coma hepaticum wieder 1:8. Der 2. Fall agglutinierte Hühnerblutkörperchen noch bei einem Titer von 1:256. Bei einem Fall mit Fettlebercirrhose lag der HAG-Titer bei 1:128.

Pathologische HAG-Titer scheinen nicht charakteristisch für das Ausmaß nekrotisierender Prozesse am Leberparen-

chym zu sein, da Cirrhosen im nekrotisierenden Schub nicht häufiger positive HAG-Befunde zeigen als andere Fälle mit Lebercirrhose. Nur 4 von 9 HAG-Befunden, die im nekrotisierenden Schub erhoben wurden, waren pathologisch. Die Verteilungskurve der HAG-Titer bei Cirrhosis hepatis zeigt eine größere Streuung als die bei der akuten Virushepatitis. Der Gipfel der Verteilungshäufigkeit liegt jedoch ebenfalls bei dem Titer 1:128 (Siehe Abb. 8).

Beziehungen zwischen HAG-Test und Bilirubinspiegel, sowie zwischen HAG-Test und Transaminasenaktivitäten sind nicht deutlich erkennbar. Es fällt aber auf, daß von 6 Seren mit GPT 35 und kleiner keines und daß von 6 Seren mit normalem Bilirubinspiegel nur eines eine schwach positive Reaktion bei 1:128 zeigte, während sonst die Häufigkeit pathologischer Titer etwa bei 50 % lag.

Bilirubin mg %	Zahl (f) d. Seren	pos. HAG-Reaktionen Anzahl	% von f
bis 0,99	6	1	16,6
1,0 - 1,9	10	4	40,0
2,0 - 5,9	10	6	60,0
über 6,0	10	5	50,0

Tabelle 6

HAG-Reaktion bei steigenden Bilirubinspiegeln.

GPT Wr.E.	Zahl (f) d. Seren	pos. HAG-Reaktionen Anzahl	% von f
bis 35	6	0	0
36 - 100	13	6	46
100 - 200	8	4	50
über 200	10	5	50

Tabelle 7

HAG-Reaktionen bei steigenden GPT-Aktivitäten

Vergleicht man die Ergebnisse des HAG-Tests mit gleichzeitig erhobenen Elektrophoresebefunden bei Lebercirrhose, so findet man in dem vorliegenden Untersuchungsmaterial zwischen dem Ausmaß der Dysproteïnämie und dem pathologischen Ausfall der Hämagglutinationsreaktion keine direkte Abhängigkeit. Sowohl bei leichten, als auch bei sehr erheblichen Dysproteïnämien kommen positive und negative HAG-Titer vor. In ihrer Eigenschaft als Träger der Antikörper interessieren hier vor allem die gamma-Globuline. Der Zusammenhang zwischen dem HAG-Test und dem gamma-Globulinspiegel des Serums kann durch den sog. "Punkt-Vierfelderkorrelationskoeffizienten" (r_{Phi}) ausgedrückt werden, dessen Grenzwerte $r_{\text{Phi}} = +1$ vollkommene positive Korrelation und $r_{\text{Phi}} = -1$ vollkommene negative Korrelation bedeuten(32). Beim Vergleich des HAG-Tests mit der relativen Erhöhung der gamma-Globuline ist $r_{\text{Phi}} = +0,03$ (Berechnung s.S.58/59). Ein Zusammenhang zwischen diesen beiden Merkmalen wird also nicht sichtbar. Im Vergleich zu den absoluten gamma-Globulinwerten wird hingegen eine gewisse, allerdings nicht signifikante, Korrelation deutlich(s. Tab.8). Hier beträgt $r_{\text{Phi}} = +0,23$.

gamma-Globuline	Zahl(f) der Seren	positive HAG-Reaktion Anzahl	% von f
rel.% ≤ 21	6	2	33
22-30	12	5	42
≥ 31	10	5	50
g% $< 2,0$	13	3	23
$\geq 2,0$	13	7	54

Tabelle 8

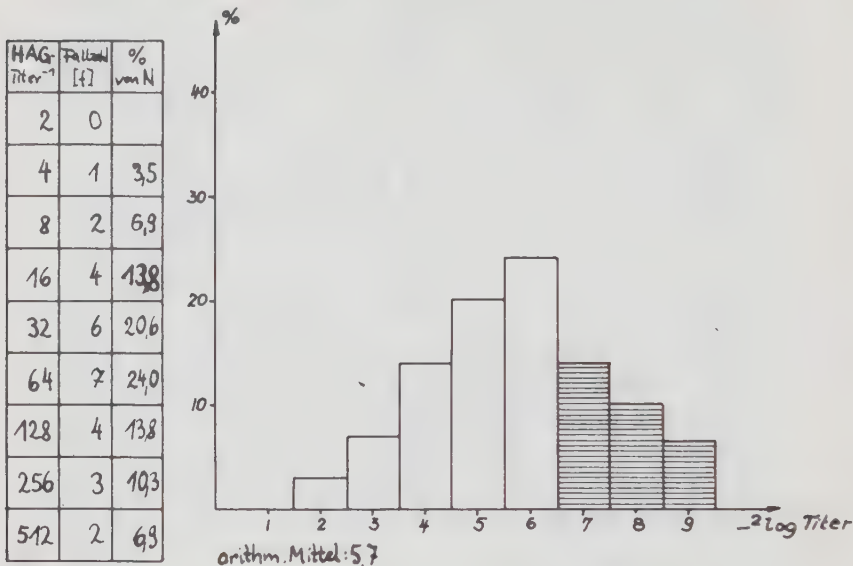
HAG-Reaktion bei steigenden gamma- Globulinwerten in der Elektrophorese.

Die Korrelation des HAG-Tests zur Verminderung des rel. Albuminanteils($r_{\text{Phi}} = +0,4$) ist bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 5% statistisch sicher(Berechnung s.S. 60).

Albumine(rel.%)	Zahl(f) d. Seren	positive HAG-Reaktion Anzahl	% von f
$< 48,0$	11	8	73
≥ 48	17	4	23

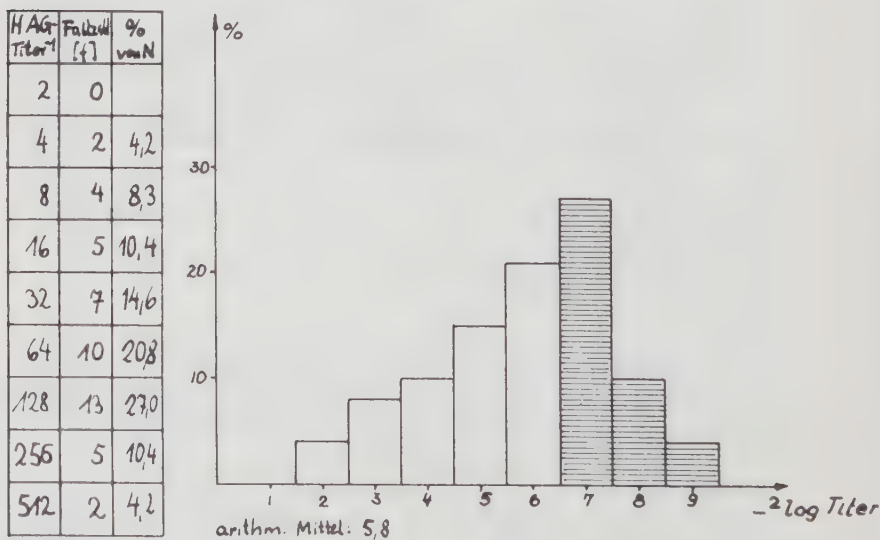
Tabelle9: HAG-Reaktion bei relativer Serumalbuminverminderung.

Abbildung 7: Häufigkeitsverteilung der HAG- Titer bei Hepatitis chronica



$\sum f = N = 29$

Abbildung 8: Häufigkeitsverteilung der HAG- Titer bei Cirrhosis hepatis



$\sum f = N = 48$

Zwischen der Hämagglutinationsreaktion und der Takata-Probe oder dem Thymol-Trübungstest lassen sich bei dem hier untersuchten Material keine Beziehungen finden.

Ergebnisse bei chronischen Erkrankungen der Leber.

(persistierende Hepatitis, protrahiert verlaufende Hepatitis und Hepatitis chronica)

Unter 29 Patienten mit meist laparoskopisch oder bioptisch nachgewiesenen chronischen Erkrankungen der Leber waren bei 9 Fällen pathologische HAG-Titer zu beobachten. Die Häufigkeitsverteilung der Titer zeigt Abb. 7.

Beziehungen zwischen HAG-Reaktion und anderen blutchemischen Befunden waren nicht erkennbar. Sowohl bei pathologischen als auch bei normalen Ergebnissen der Elektrophorese, der Takatareaktion, des Thymoltrübungstestes und der Transaminasenaktivität waren positive, wie negative HAG-Titer in ähnlicher Weise vorhanden. Auch unter drei Formen von weitgehend stationärer Hepatitis chronica fand sich ein Serum mit einem pathologischen Titer von 1:256. Unter 12 Fällen mit bekannter oder wahrscheinlicher Virushepatitis in der Ätiologie, waren 5 positiv, während unter 7 Fällen ohne Virushepatitis in der Anamnese alle negativ waren.

Ergebnisse bei Steatosis hepatis

Bei Steatosis hepatis konnten gehäufte Fälle mit pathologischen Hämagglutinationstitern nicht gefunden werden. Unter 10 Seren lag eines mit einem Titer von 1:128 im pathologischen Bereich.

Ergebnisse bei Verschlußikterus

Es wurden 46 Seren, 40 von Patienten mit extrahepatischem und 6 mit intrahepatischem Verschluß der Gallenwege, auf ihre Fähigkeit zur Agglutination von Hühnerblutkörperchen untersucht. 3 Seren zeigten pathologische

HAG-Titer, das sind 6,5 %. Ein positives Serum gehörte einem Patienten mit Steinverschluß, bei dem aber außerdem noch eine aktive Lebercirrhose vorlag; er hatte einen HAG-Titer von 1:256. Das zweite pathologische Serum mit einem Titer von 1:128 entstammte einem Patienten mit einem akuten Gallenblasenempyem bei chronischem Steinleiden. Der dritte Fall mit positivem HAG-Test bei Verschlußikterus soll etwas eingehender geschildert werden:

Die Patientin wurde mit einem Ikterus aufgenommen, der zwei Tage vor einer Kolik im rechten Oberbauch aufgetreten war. Solche Koliken hatten seit 14 Tagen bestanden. Bei der Einstellung erraben sich neben einer 1-2 Querfinger unter dem rechten Rippenbogen tastbaren Konsistenzvermehrten Leber, folgende Laborbefunde: alkalische Serum-Phosphatase 16,8 mUol-Einheiten, Takata (Mancke-Sommer) 70 mg% $HgCl_2$, Thymol 2 Trübungs-Einheiten, Bilirubin ges. 12,5 mg%, direkt 9,5 mg%, Urobilinogene vermehrt, Urobilin 6, GOT/GPT 873/1423. Der Serumeisenspiegel 5 Tage später war bei 168 μ %.

Diese zweideutigen Befunde und die Tatsache, daß der Ikterus und die alkalische Serumphosphataseaktivität nicht zurückgingen, veranlaßten die Durchführung einer Laparoskopie, die ein extrahepatisches Verschlußsyndrom aufdeckte. Eine Leberpunktion wurde wegen der Gefahr einer Gallenfistelbildung unterlassen. Die klinische Diagnose lautete also: extrahepatisches Verschlußsyndrom mit Verdacht auf akute Cholangiohepatitis.

Die Patientin wurde in der chirurgischen Abteilung des Hauses operiert. Der histologische Befund am Operationspräparat zeigte eine chronisch verlaufende, zum Teil nekrotisierende Cholecystitis bei Cholelithiasis. Der Verschluß war durch einen Gallenstein verursacht worden.

Die Untersuchung eines Leberzylinders (Prof. Schopper) zeigte ausgedehnte Cholestase mit Gallenzylindern in den zentralen Leberabschnitten, sowie etwas vermehrtes und rundzellig infiltriertes periportales Bindegewebe, von dem kleine Fortsätze in das angrenzende Leberparen-

HAG-Titer ⁻¹	Fallzahl [f]	% von N
2	1	2,2
4	4	8,7
8	6	13,0
16	11	24,0
32	13	28,2
64	8	17,4
128	2	4,4
256	1	2,2

$\Sigma f = N = 46$

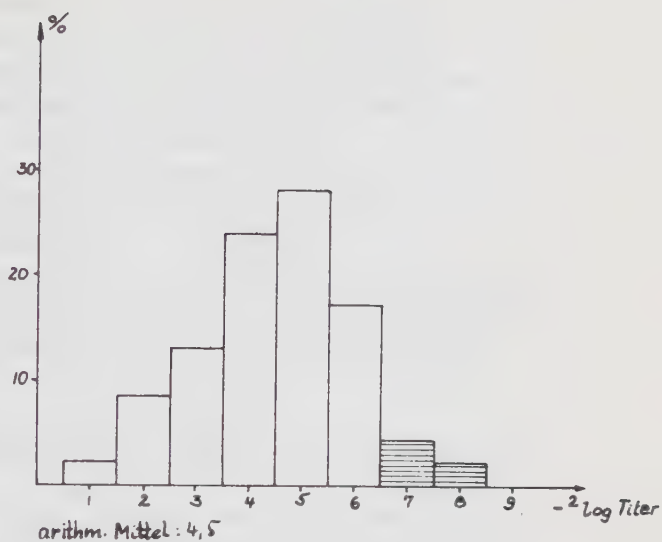


Abbildung 9: Häufigkeitsverteilung der HAG- Titer bei Verschlußikterus.

chym einstrahlten. Die Leberzellen zeigten zum Teil regressive Veränderungen mit unscharf begrenztem Protoplasma und mit Vakuolisierung und Auflösung von Protoplasma.

Dieser Fall wurde deshalb etwas eingehender geschildert, weil er die Frage aufwirft, ob auch Leberschäden, die durch den Verschuß selbst, bzw. durch auf die Leber übergreifende Entzündungen der Gallenwege, bedingt sind, erhöhte Hämagglutinin-Titer verursachen können.

Abbildung 9 zeigt die Verteilung der HAG-Titer bei Verschuß-ikterus. Der Mittelwert der Verteilung liegt mit $-^2\log \text{ Titer} = 4,4$ in der Nähe des arithmetischen Mittels bei Kontrollseren (4,3).

Abhängigkeit der HAG-Reaktion vom Lebensalter und vom Geschlecht.

Die altersmäßige Zusammensetzung der Hepatitiskranken, deren Seren hier untersucht wurden, ist nicht repräsentativ für die Altersverteilung der Hepatitis epidemica, die ihre Gipfel zwischen dem 5. und 20. Lebensjahre hat. In welchem Ausmaße bei den untersuchten Seren Fälle mit Serumhepatitis beteiligt waren, war aus der Anamnese nicht genau zu ermitteln. Die überwiegende Mehrzahl der Seren entstammte jedenfalls erwachsenen Patienten zwischen dem 21. und 76. Lebensjahr. Die positiven HAG-Titer verteilten sich ziemlich gleichmäßig auf alle Altersklassen.

Hinsichtlich der Verteilung der positiven HAG-Titer auf die Geschlechter ist kein Unterschied bemerkt worden.

Abhängigkeit des HAG-Tests von der Inkubationszeit der Testansätze.

Szécsey und Dóbiás beobachteten, daß bei Inkubation der Versuchsansätze bei $+ 4^{\circ} \text{ C}$ nach 5-7 Stunden der Agglutinationsvorgang im wesentlichen abgeschlossen ist.

In der eignen Arbeit wurden zahlreiche Seren von Patienten mit Virushepatitis, mit Lebercirrhose und Kontrollseren nach 2 Stunden und nach 16-18 Stunden abgelesen.

Die Titer nach 2 Stunden waren im Durchschnitt um 2,6 - 2,8 Stufen niedriger, als nach 16 - 18 Stunden. Im Einzelnen konnten jedoch bezüglich der Titerdifferenz erhebliche Schwankungen beobachtet werden. Tabelle 10 zeigt die Titerdifferenzen in Titerstufen, abgelesen nach 2 und nach 16 - 18 Stunden.

d	Anzahl der Fälle mit:		
	Hepat.	Cirrh.	Kontr.
0	2	1	2
1	6	10	6
2	31	10	11
3	32	14	21
4	15	7	7
5	3	2	1
6	1	1	-

Tabelle 10

Titerdifferenz (d) in Titerstufen nach 2 und nach 16 - 18 Stunden Inkubationszeit.

Die Streuung der Titerunterschiede, nach 2 und nach 16 - 18 Stunden Inkubationszeit, läßt darauf schließen, daß außer der Konzentration des Agglutinins im Serum noch andere Faktoren auf die Geschwindigkeit des Agglutinationsvorganges einwirken.

Wertet man nach zweistündiger Inkubationszeit Titer von 1:16 und darüber als pathologisch, so ergeben sich im Vergleich zur 16 - 18-stündigen Inkubationszeit folgende Ergebnisse:

Inkubationszeit	positive Titer bei		
	Hepat.	Cirrh.	Kontr.
2 Stunden	66,6 %	31 %	10 %
16 - 18 Stunden	80 %	33 %	4 %

Tabelle 11

Nach 2 Stunden wurden bei 90 Seren von Patienten mit Virushepatitis und bei 55 von Patienten mit Lebercirrhose weniger, bei 48 Kontrollseren mehr pathologische HAG-Befunde beobachtet, als nach 16 - 18 Stunden.

Es ist also zu empfehlen, den Agglutinationsvorgang möglichst vollständig ablaufen zu lassen und dann erst abzulesen.

Diskussion.

Alle Autoren stimmen darin überein, daß Hämagglutinine gegen Hühnererythrozyten oder gegen Erythrozyten von *Macaca Rhesus* auch in den Seren von Kontrollpersonen vorkommen, wenn auch meist in niedrigerer Konzentration. Je nach Methode wurde die Grenze zwischen normalen, auch bei den meisten Kontrollseren noch möglichen und pathologischen, besonders für die Virushepatitis typischen Titern verschieden hoch angenommen.

Der Prozentsatz sogenannter falsch positiver Ergebnisse variiert bei den einzelnen Untersuchern zum Teil erheblich. Walter und Wilanowska (21) konnten überhaupt keinen nennenswerten Unterschied im Verhalten der Hamagglutinationsreaktion mit Hühnerblutkörperchen zwischen Seren mit akuter Hepatitis und Kontrollseren finden.

Die 6,8 % falsch positiver HAG-Titer aus den eigenen Untersuchungen lassen sich in Einklang bringen mit den Ergebnissen von Havens (7%), Mac Collum (6%), Szécsey und Dóbiás (2,9 %), Frenger und Scheifarth (8,8 %), Gramlich und Müller (14 %).

Hämagglutinine in fast allen Blutseren kranker und gesunder Menschen lassen die Vermutung aufkommen, daß es sich bei dem hämagglutinierenden agens um einen heterophilen Antikörper handelt, dessen Konzentration bei bestimmten Krankheiten, vor allem aber bei der Virushepatitis ansteigt. Hoyt und Morrison (15) konnten ein wichtiges Argument für eine solche Hypothese erbringen: Mit dem Agglutinin beladene Rhesuserythrozyten verursachten im Serum von Kaninchen das Auftreten von Antiglobulin-Antikörpern. Damit war bewiesen, daß unter den hämagglutinierenden Faktoren Stoffe mit Globulinnatur sein mußten.

Nach Untersuchungen von Havens sind die Hämagglutinine in der Gammaglobulinfraktion des Serums erhalten, was auch durch Szécsey und Dóbiás bestätigt werden konnte, die in der 10 %igen Fraktion Cohn II (Gammaglobulin) von Normalseren und von Seren Hepatitiskranker HAG-

Titer fanden, nicht aber in der 10 %igen Fraktion Cohn-V (Albumin), bzw. dem alpha- und beta- Globulin - Fraktionsgemisch. Gegen eine direkte Agglutination der Hühnerblutkörperchen durch das Virus selbst führen Szécsey und Dóbiás noch an, daß es ihnen nicht gelungen sei, durch Rekonvaleszentenserum Agglutinationshemmung zu bewirken, und daß der agglutinierende Faktor weniger thermoresistent sei, als das Virus. Gegen das letzte Argument ist einzuwenden, daß Agglutinationsfähigkeit und Infektiosität keineswegs an die gleichen Komponenten der Virusteilchen gebunden sein müssen. Für das Influenzavirus z.B. sind verschiedene Komponenten für diese beiden Eigenschaften nachgewiesen (Bolt). Erhitzen auf 65° C zerstört zwar dessen Agglutinationsfähigkeit, hebt aber nicht die für die Pathogenität des Virus so wichtige Absorptionsfähigkeit auf (7).

Für die Virustheorie der Hämagglutination bei akuter Virushepatitis sprechen vor allem die Ergebnisse aus den Untersuchungen von Rubin, Kemp und Bennet (8) und Wiedemann und Beyreder (22). Erstere brachten eine Anzahl von Hepatitis- und Kontrollseren mit einem viruciden Stoff, beta- propiono-lacton, zusammen. Sie erhielten einen Titerverlust bei hochtiterigen Hepatitisseren bis zu einem unspezifischen Resttiter. Keinen Titerverlust erhielten sie bei niedrigtiterigen Kontrollseren.

Demnach stehen zwei verschiedene Agglutinationsmechanismen für die Kontrollseren und für Seren von Patienten mit Virushepatitis zur Diskussion. Hohe pathologische Agglutinationstiter würden durch das Virus selbst verursacht werden, während niedrige unspezifische Titer bei Kranken, wie bei Gesunden durch einen anderen Mechanismus zu Stande kämen, vielleicht durch jene Hämagglutinine, die in den Versuchen von Morrison und Hoyt (s.o.) im Kaninchenserum das Auftreten von Antiglobulin-Antikörpern verursacht haben. Der Beweis für das Virus als Ursache pathologischer HAG-Titer ist allerdings nicht ganz schlüssig, da virucide Eigenschaften des beta-

propiono- lacton durch Frank W. Hartmann, Gerd LoGrippe und A. R. Kelley zwar für eine Reihe von Viren nachgewiesen wurden, für das Hepatitisvirus dürfte dieser Effekt aber nicht gesichert sein. Immerhin hatten die Autoren aber unter 161 Patienten nach 345 mit beta-propiono-lacton behandelten Plasmatransfusionen innerhalb von 2 1/2 Jahren keine Hepatitis beobachten können (3).

Rubin, Kemp und Benett ist es außerdem gelungen, mit Rekonvaleszentenseren von 2 Patienten mit Serumhepatitis die HAG-Reaktion von Serumhepatitis - Seren zu hemmen. Titer in Seren von Patienten mit Hepatitis infectiosa konnten damit nicht vermindert werden --- ein interessanter Hinweis auf eine möglicherweise verschiedene Antigenstruktur des Virus A und B, der, wenn es gelingen sollte, diese Ergebnisse zu reproduzieren, differentialdiagnostische Bedeutung gewinnen könnte. Bekanntlich hinterläßt ja auch Serumhepatitis nur Immunität gegen Serumhepatitis und nicht gegen Hepatitis infectiosa und umgekehrt (10).

Die Untersuchungen von G. Wiedemann und J. Beyreder bestätigen mit anderen Methoden die Annahme zweier verschiedener Agglutinationsmechanismen bei Hepatitis und Kontrollseren. Bei hohen Ausgangstitern zeigte sich nach UV-Bestrahlung der Seren eine erhebliche, bei niedrigen Ausgangstitern keine Reduktion der HAG-Titer. Ein Antiglobulin-Konsumptionstest war sowohl bei Hepatitis, als auch bei Kontrollseren für niedrige Titer positiv (Titerverlust), für hohe Titer aber negativ. Auch hier wird also die Globulinnatur des für die unspezifischen niedrigen Titer verantwortlichen Agglutinins bestätigt.

Die Möglichkeit, daß hohe HAG-Titer durch das Hepatitisvirus selbst oder gegen das Virus gebildete Antikörper verursacht werden, erweckt die Hoffnung, einen Test gefunden zu haben, der es ermöglicht, latente, klinisch nicht in Erscheinung tretende und durch bisherige Methoden nicht aufdeckbare Träger des Hepatitisvirus zu erkennen. Durch prophylaktische Eliminie-

rung hochtiteriger Blutspender könnte möglicherweise die Verbreitung der Serumhepatitis verringert werden. Havens unterscheidet vom Hepatitisvirus befallene Patienten

mit klinisch manifester Hepatitis und Ikterus (A), mit klinisch manifester Hepatitis ohne Ikterus (B), mit subklinischer Hepatitis mit geringer hepatischer Dysfunktion (C) und eine alimentäre Phase der Hepatitis infectiosa mit Virämie oder virämische Phase einer Serumhepatitis (D). Virusträger müssen demnach nicht durch das Virus erkrankt sein. Der Hirst-Test, bei dem das Virus als Bindeglied zwischen den Erythrozyten elektronenmikroskopisch nachgewiesen ist, zeigt nach Bolt (7) Proportionalität zwischen Viruskonzentration und Teilchendichte auf der Erythrozytenmembran, nicht aber zwischen Agglutinationsfähigkeit und Infektionsfähigkeit der Virusteilchen. Rezeptoren an der Zelloberfläche sind Bedingung für die Pathogenität der Viren. (7).

Neeffe, J.R. und Havens nehmen nach Vollbluttransfusion in 0,2 bis 1 % der Fälle Auftreten einer Hepatitis an (10). Wenn man das im vorangehenden Gesagte berücksichtigt, muß die Häufigkeit der Virusträger größer sein, da man ja auch unter den Blutempfängern gegen das Virus Resistente annehmen muß.

In einer Studie von Fitsch, Wannabe u.a. (1955) zeigten unter 3655 Blutspendern 12 % schwere und 17 % leichte Abweichungen in den durchgeführten Lebertesten (6).

Nach Dennot, Leham, Upward und Thomson wurden nach 4430 Transfusionen in 39 % Hepatitiserkrankungen gefunden (10). Innerhalb dieser allerdings recht erheblichen Streuung der verschiedenen Ergebnisse liegen auch die prozentualen Häufigkeiten positiver HAG-Titer bei den Kontrollseren der meisten Untersucher.

In den eigenen Untersuchungsergebnissen waren 5 von 75 Kontrollseren positiv, davon lag eines mit einem Glutamat-Pyruvat-Transaminasenspiegel von 36 Wroblewski-Einheiten schon etwas außerhalb des Normbereiches. Drei

aus der chirurgischen Klinik des Hauses stammende Fälle mußten wegen leicht pathologischer Lebertests aus den Kontrollseren eliminiert werden, davon hatten 2 Fälle pathologische Hämagglutinationstiter.

In diesem Zusammenhang ist die Arbeit von James R., Mac Arthur und Nuala Crowley (19) zu erwähnen. Die Autoren untersuchten nach der Methode von Havens exponierte und nicht-exponierte Soldaten. Dabei fiel besonders eine Gruppe mit 52,8 % positiven HAG-Titern auf, die sich aus 36 Marinesoldaten zusammensetzte, die 5 Monate vorher einer Hepatitis infectiosa exponiert waren. Die Soldaten lebten in Baracken zusammen, waren alle gegen Gelbfieber geimpft worden und hatten eine Gammaglobulinprophylaxe bekommen. Monate später zeigten nur noch 30 % unter diesen Soldaten pathologische HAG-Titer.

Die auf Grund unserer Untersuchungen ermittelten Verteilungskurven bei Normalseren und bei Virushepatitis sind deutlich von-einander getrennt (Abb. 1 u. 2). Die beiden Kurven haben aber einen schmalen Bereich auf der Abszisse gemeinsam. Dieser schmale Überschneidungsbereich charakterisiert die diagnostische Brauchbarkeit des Tests. Hohe HAG-Titer sind nicht spezifisch, aber in hohem Maße charakteristisch für die Virushepatitis. Die Wahrscheinlichkeit der Hepatitis nimmt mit steigenden HAG-Titern zu. Titer von 1 : 128 und darüber liegen außerhalb der Standardabweichung der Normalkurve. Die eigenen Ergebnisse aus den Untersuchungen mit Seren von Patienten mit Virushepatitis lassen sich gut mit anderen, bisher aus der Literatur bekannten, in Einklang bringen. (5,8,9,12,14,17, 18,20,22,24,26,31).

Ein Vergleich der verschiedenen Arbeiten macht insofern gewisse Schwierigkeiten, als die Methoden zum Teil erheblich variiert wurden. Eine Standardisierung der HAG-Methode, wie sie von Lippelt und Nogalski (2) für Heterohämagglutinationsversuche vorgeschlagen wurde, ist von den verschiedenen Autoren nicht berücksichtigt worden, da es ja galt, die Spezifität für die Virushepatitis zu verbessern. Letzteres ist einigen Autoren auch weitgehend gelungen. (30,18). Es fällt jedoch auf, daß trotz erhebli-

cher Abweichungen in der Methode erstaunlich ähnliche Ergebnisse erzielt wurden und umgekehrt.

So können die eigenen Ergebnisse nicht nur recht gut mit denen von Szécsey und Dóbiás sowie von Frenger und Scheiffarth in Einklang gebracht werden, sondern auch mit anderen, in der Methode mehr oder weniger stark abweichenden Arbeiten der Autoren Havens, Hoyt, Mattila, Mac Clelland, Mac Collum, Morris, Morrison, Rubin u.a.

Die zum Teil erheblichen Abweichungen in den Ergebnissen bei gleicher oder ähnlicher Methode einerseits (z.B. 5 und 14) und die oft verblüffenden Übereinstimmungen in den Resultaten bei ganz verschiedenen Methoden andererseits, legen den Verdacht nahe, daß neben den bekannten, in den Versuchsreihen konstant gehaltenen Bedingungen, wie Vorbehandlung der Patientenserum, Ionenmilieu und PH, Erythrozytenspezies, noch zahlreiche andere unbekannte Fehlerquellen vorhanden sind, die durch Summation größere Abweichungen sowohl von Einzelergebnissen, als auch von ganzen Versuchsreihen, mitverursachen können. Solche unbekannten Fehlerquellen können im Patientenserum liegen (z.B. Blutspiegel eines bestimmten Medikamentes), bei den Testerythrozyten (z.B. Rassenmerkmale oder individuelle Eigenschaften an den Erythrozytenoberflächen), aber auch in der Durchführung des Versuches selbst, z.B. Pipetten oder Röhrchen mit Seifenspuren an der Wand, Titrationsfehler, verschiedene Lichtquellen oder verschiedener Hintergrund beim Ablesen der Ergebnisse u.s.w.

Doppelte Versuchsansätze mit dem gleichen Serum zeigten in den eigenen Untersuchungen meist jedoch keinen wesentlichen Unterschied. Titrationsfehler dürften bei sorgfältigem Arbeiten kaum mehr als eine Titerstufe ausmachen. Bei diagnostischen Untersuchungen empfiehlt es sich jedoch, möglichst mehrere Untersuchungen durchzuführen; dies gilt natürlich besonders für den Grenztiter 1:64.

Daß die Chance bei Virushepatitis einen positiven HAG-Test zu finden im Frühstadium der Erkrankungen am größten ist, wird auch von anderen Autoren angegeben.

Szécsey und Dóbiás fanden in der ersten Krankheitswoche 83,1 %, in der zweiten nur noch 7,2 %, in der drit-

ten 6,5 % und in der vierten nur noch 3,2 % pathologische HAG-Titer. Jorke und Hoffmeyer fanden die häufigsten pathologischen Titer in der zweiten Krankheitsdekade. Nur selten wurden ansteigende Titer im Krankheitsverlauf beobachtet. Frenger und Scheiffarth hingegen sahen ein schnelles Ansteigen und Persistieren der HAG-Titer, häufig über die Zeit der Normalisierung der Transaminasen hinaus.

Beziehungen zwischen der Schwere des Krankheitsbildes und der Höhe der HAG-Titer konnten auch von anderen Autoren nicht angegeben werden. Auch wurden keine Beziehungen zu anderen Lebertesten gefunden: (18,20,27,31).

Der Zusammenhang zwischen Infektion durch das Hepatitisvirus und das zeitliche Verhalten des HAG-Titers wurde besonders eindrucksvoll durch die Versuche an Freiwilligen von Havens dargestellt. Havens fand bei 12 Freiwilligen, 8 bis 14 Tage nachdem sie mit Hepatitisvirus inoculiert worden waren, ein Ansteigen der HAG-Titer vor, gleichzeitig oder nach Beginn klinischer oder im Labor nachweisbarer Symptome. Acht Patienten bekamen eindeutig Hepatitis. Alle acht, sowie drei von den vier übrigen Versuchspersonen mit wahrscheinlicher Hepatitis zeigten ansteigende Titer. Elf Kontrollseren waren beständig negativ. In einem anderen Versuch wurden 10 Personen inoculiert, zwei davon bekamen keine Hepatitis. Sechs der verbleibenden acht wurden nach 31 bis 42 Tagen Inkubationszeit krank. Die restlichen zwei nach 76 und 89 Tagen. Nur drei von den acht Erkrankten hatten eine Gelbsucht. Sechs Patienten zeigten 34 - 42 und 76 Tage nach der Inoculation ansteigende HAG-Konzentrationen. Die beiden nicht Erkrankten blieben negativ. Das Erscheinen pathologischer HAG-Titer war begleitet vom Anwachsen der Serum-Transaminasen. Die HAG-Titer-Erhöhen hielten 6, 10, 14 und 36 Tage an, bei einem Patienten war nur eine einzige positive Bestimmung am 76. Tage nach der Inoculation durchführbar, acht Tage später war der Test schon negativ.

Diese Ergebnisse finden sich in den eigenen Erfahrungen insofern wieder, als auch hier die meisten positiven Titer in früheren Krankheitsphasen auftreten, zu der

Zeit, wo auch die Transaminasenwerte und der Bilirubinspiegel im Serum meist ihre hohen Werte haben. In den meisten Fällen klingen auch in der eigenen Arbeit die HAG-Titer mehr oder weniger schnell ab. Eine direkte Korrelation in dem Sinne, daß bei hohen Serumtransaminasen- oder Bilirubinwerten auch die HAG-Titer hoch sein müßten, besteht nicht.

Es erhebt sich die Frage, worauf dieses Verhalten der Agglutinine zurückzuführen ist. Diese Frage wird erst dann mit Sicherheit beantwortet werden können, wenn das Wesen der HAG-Reaktion bei Virushepatitis endgültig geklärt ist. Ist das Virus selbst Ursache der pathologischen HAG-Titer, so würde der Abfall der Titer auf das Verschwinden des Hepatitisvirus aus dem Blut hinweisen. Das wäre gut denkbar, da die höchste Infektiosität bei Virushepatitispatienten in der praeikterischen und zu Beginn der ikterischen Phase besteht. Etwa drei Wochen nach Beginn der Erkrankung soll in der Regel der Ansteckungsstoff aus dem Blut verschwunden sein (10). Bei Freiwilligen wurden aber vereinzelt auch noch 5 bis 15 Monate nach Beginn der Erkrankung Viren im Stuhl nachgewiesen. (10).

Ist nicht das Virus direkt die Ursache der HAG-Reaktion, so könnte man an einen Zusammenhang mit den für die Hepatitis typischen Permeabilitätsschädigungen (Parapedese) und Nekrosen der Leberparenchymzellen denken, die ja auch gleichzeitig als Ursachen für die Erhöhung der Transaminasenaktivitäten und des Bilirubinspiegels gelten. Produkte der Lebernekrosen selbst oder gegen sie gerichtete Autoantikörper mit heterophilen Eigenschaften könnten eine Heterohämagglutination mit Hühnererythrozyten hervorrufen. Heterohämagglutinine sind von Lippelt und Nogalski und vor ihnen schon von Eaton und Mitarbeitern bei Virushepatitis vermehrt gefunden worden (2,4). Sie wurden gegen Schaferythrozyten nachgewiesen und können daher die Differentialdiagnose des Pfeiffer'schen Drüsenfiebers durch den Paul-Bunnell-Test stören. Der Differential-Test (Meerschweinchen-nierenabsorption) ist bei der Hepatitis allerdings negativ, beim Pfeiffer'schen Drüsenfieber aber positiv. Eaton und

Mitarbeiter hatten außerdem gefunden, daß die Antischaf-Agglutinine einerseits durch menschliches Lebergewebe absorbiert werden können (im Gegensatz zu den Mononucleoseagglutininen) und daß andererseits die in Sera von Hepatitisrekonvaleszenten auftretenden Amboceptoren gegen Lebergewebe durch Schafblutzellen absorbiert werden. Eaton und Mitarbeiter kamen daher zu der Auffassung, daß die Heteroagglutinine bei der Hepatitis in einer Beziehung zum Leberschaden, bzw. zu dem durch diesen hervorgerufenen Sensibilisierungsvorgang stehen. (Eaton, M.C., W.D. Murphy und V.L. Hanford: J. of Exper.Med. 79,539 (1944)).

Da nach Lippelt und Nogalski alle Heteroagglutinine große strukturelle Ähnlichkeit besitzen und sich nur durch das Überwiegen bestimmter "Hauptvalenzen" voneinander unterscheiden, wäre es gut denkbar, daß Virushepatitispatienten neben den Antischafagglutininen auch solche mit Hauptvalenzen gegen Macaca Rhesus- und Hühnererythrozyten bilden. Daß Lippelt und Nogalski bei Hühnerblutkörperchen keine Antigene für Heteroagglutinine finden konnten, mag an der verschiedenen Technik liegen.

Auch Colobert und Mitarbeiter nehmen an, daß es sich bei den von ihnen gefundenen Agglutininen gegen Macaca Rhesus um aspezifische heterophile Antikörper handele, die möglicherweise mit der "Degradation" der Leber zusammenhängen und die Bedeutung von Autoantikörpern haben könnten (31).

Eine solche Hypothese würde auch die in der vorliegenden Arbeit gefundene größere Häufigkeit pathologischer HAG-Titer bei Hepatitis chronica und bei Lebercirrhosen verständlich machen.

Daß bei Virushepatitis mit hohen Serumbilirubinwerten häufiger pathologische HAG-Titer vorkommen, als bei niedrigen, lenkt zunächst ebenfalls den Verdacht auf einen causalen Zusammenhang zwischen Parenchymschädigung der Leber und hohen HAG-Titern. Diese Korrelation fand sich aber nicht wieder bei Hepatitis chronica und bei Lebercirrhose. Auch könnten ja beide, die starke Parenchymbeteiligung und in deren Folge der starke Ikterus, sowie die häufige

figer pathologischen HAG- Teste im Einzelfalle bis zu einem gewissen Grade mit der Stärke der Virusinvasion korrelieren. Da es verschieden virulente Viren gibt, wie aus den Übertragungsversuchen mit Hühnerembryonen (10) und auch aus dem zeitweise recht unterschiedlichen "genius epidemicus" von Virushepatitisepidemien hervorgeht und außerdem die Pathogenität des Virus bei verschiedenen Menschen verschieden sein muß, wäre ohnehin keine sehr weitgehende Korrelation zu erwarten.

Bei Hepatitis chronica und bei Lebercirrhosen fanden auch andere Autoren (9, 12, 18, 20, 24, 26, 31) häufiger positive HAG-Titer, als bei Kontrollseren. Wäre das Virus selbst das agglutinierende agens, so müßte man daraus schließen, daß bei chronischen Erkrankungen der Leber Virämie häufiger vorkommt, als bei Kontrollgruppen. Bei posthepatitischen Cirrhosen müßten dann die pathologischen HAG-Titer häufiger beobachtet werden, als bei Cirrhosen anderer Ätiologie. In den eigenen Untersuchungen konnte das nicht gefunden werden. Positive HAG-Titer **waren** etwa gleich häufig, unabhängig davon, ob eine Gelbsucht aus der Anamnese bekannt war oder nicht. Auch unter den postnekrotischen Lebercirrhosen, die ja häufig aus der Virushepatitis, als Prototyp einer akuten Erkrankung mit Parenchymuntergang hervorgehen (11), wurden positive HAG-Tests keineswegs häufiger, als bei anderen Cirrhosen gefunden.

Eher für einen Zusammenhang des Tests mit der Leberparenchymschädigung sprachen wiederum die auffällende Seltenheit pathologischer Titer bei normalem Bilirubinspiegel und normalen Transaminasenaktivitäten, sowie die häufigeren pathologischen Titer bei niedrigem Albuminspiegel. Der Abfall der Albumine wird ja als Zeichen der Schädigung der Leberzelle als Bildungsstätte derselben aufgefaßt (10).

Die Versuche mit Seren von Patienten mit Verschlußikterus sollten die Frage klären, inwieweit der HAG-Test für die Differentialdiagnose der Virushepatitis gegenüber dem Verschlußikterus brauchbar ist.

Diese Frage ist umso wichtiger, als es in Ermangelung eines spezifischen serologischen Nachweises des Hepatitisvirus mitunter sehr schwierig ist, eine sichere Entscheidung in der Differentialdiagnose herbeizuführen und entscheidende therapeutische Konsequenzen daraus gefolgert werden müssen. In typischen Fällen ist die Diagnose aus der Anamnese, physikalischen Untersuchung und den charakteristischen Laborwerten leicht zu stellen. Manchmal können jedoch erhebliche Schwierigkeiten auftreten, besonders, wenn bei lange bestehendem Verschuß oder bei Komplikation durch intrakanalikulär aufsteigende Infektion aus den Gallenwegen die Leberfunktionsproben pathologisch werden oder wenn bei einer Virushepatitis mit cholestatischer Verlaufsform die Möglichkeit eines Arz-
neimittelikterus oder eines extrahepatischen Verschlusses zur Debatte steht.

In solchen Fällen können selbst Laparoskopie und Leberpunktion versagen, sodaß die operative Revision der Gallenwege nicht zu umgehen ist (10).

Havens nannte vier Gründe für die zunehmende Wichtigkeit der Differentialdiagnose der Virushepatitis in den letzten zwei Jahrzehnten:

1. das riesige Anwachsen im Auftreten der Virushepatitis,
2. der vermehrte Gebrauch von Humanblut und von Plasmafraktionen in der Therapie mit seinen Gefahren der Serumhepatitisübertragung,
3. der weitverbreitete Gebrauch von Gelbsucht erzeugenden Arzneimitteln und
4. das sporadische oder im Verlauf von typischen Hepatitisepidemien auftretende Vorkommen der sogenannten cholestatischen Hepatitis.

Seren von Patienten mit Verschußikterus wurden von zahlreichen Forschern mit der HAG-Methode untersucht (7, 9, 12, 18, 20, 24). Tabelle 11 zeigt, daß bei allen Autoren weitgehend übereinstimmende Resultate angegeben werden. In allen Fällen lagen die falsch positiven Ergebnisse bei Verschußikterus unter 7 %. In der eigenen Arbeit zeigten unter 46 Patienten 93,5 % negative HAG-Titer.

Tabelle 11

Vergleich der Ergebnisse verschiedener Autoren bei Verschlusßikterus, Virushepatitis und Kontrollgruppen.

Autoren	Lit.	Verschlusßikt.		Virushepatitis		Kontrollen	
		Anzahl	% pos.	Anzahl	% pos.	Anz.	% pos.
Hoyt u.	7	47	4,2	-	-	-	-
Morrison	5	14	0	19	73	129	11
	9	21	0	22	86	431	14
Mc Collum	12	14	0	58	86	31	6
Szécsey	18	52	3,8	106	72,6	123	2,9
Turner	20	12	0	58	60	11	1,1
Frenger	24	4	0	28	82,1	45	8,8
Havens	30	23	0		70		7
Gramlich u. Müller	31	26	12,0	102	37	647	14,0
Eigene A.		46	6,5	55	76	74	6,8

In den Arbeiten (5), (7) und (9) wurden rote Blutkörperchen von *Macaca Rhesus* verwandt, in den Arbeiten (12), (18), (24), (30) und (31) solche von Küken bzw. von jungen Hühnern.

Unterschiedliches Verhalten bei extra- oder intrahepatischem Verschuß war in meinem Material nicht zu beobachten.

Somit kann in Übereinstimmung mit den oben zitierten Autoren die HAG-Methode als eine Hilfe in der Differentialdiagnose gegenüber dem extra- oder intrahepatischen Verschuß gewertet werden. Die Methode muß dabei kritisch angewendet werden, d.h. nur gemeinsam mit anderen Tests. Die HAG-Methode allein gestattet keine sichere Entscheidung. Ein positives Ergebnis dient im Zweifelsfalle als zusätzliches differentialdiagnostisches Argument für die Virushepatitis und gegen den Verschußikterus. Das Argument ist umso gewichtiger, je höher der HAG-Titer ausfällt. Ein negativer HAG-Befund schließt die Virushepatitis zwar keineswegs aus, spricht aber doch dagegen. Bei der Annahme eines Verschußikterus unterstützt der negative HAG-Befund die Diagnose. Man muß aber daran denken, daß gleichzeitig ein chronischer Leberschaden vorliegen kann, der einen positiven Test verursachen kann. Einer unserer drei Verschußikterusfälle mit pathologischen HAG-Titern hatte gleichzeitig eine aktive Lebercirrhose. Bei bekanntem Verschußikterus könnten somit positive HAG-Reaktionen auf einen gleichzeitig vorhandenen Leberschaden hinweisen. Umgekehrt wird die differentialdiagnostische Bedeutung des HAG-Testes durch diese Möglichkeit gemindert, da gerade oft bei älteren Patienten gleichzeitig ein bis dahin vielleicht sogar unbekannter Leberschaden vorliegen kann. Der differentialdiagnostische Wert des Testes wird nach eigenen Erfahrungen wohl auch dadurch gemindert, daß ein durch den Verschuß selbst verursachter Leberschaden Ursache einer Titererhöhung werden kann, worauf besonders der unter den Ergebnissen bei Verschußikterus geschilderte Fall mit einer Cholangiohepatitis hinweist.

F.Gramlich und H.B.Müller haben an einem großen Beobachtungsmaterial Untersuchungen über die Brauchbarkeit des HAG-Testes in der Differentialdiagnose der Virushepatitis durchgeführt. An einem 877 Fälle umfassenden unausgewählten Patientengut (Poliklinik) wurden gleichzeitig HAG-Titer, GOT, GFT und alkalische Serum-Phosphatasen bestimmt. Die diagnostische Treffsicherheit des HAG-Testes lag bei den Versuchergebnissen dieser Autoren in derselben Größenord-

nung, wie die der GOT- und GPT-Bestimmungen. Jedoch konnte die positive Trefferwahrscheinlichkeit jedes einzelnen Fermenttests durch Kombination mit dem HAG-Test erheblich gesteigert werden. Eine Korrelation der Werte zwischen Fermentuntersuchung und HAG-Ergebnis konnte nicht gefunden werden.

Der Einfluß des Lebensalters auf die HAG-Reaktion ist durch die Veröffentlichungen von Jennings und Hindmarsh in die Diskussion gebracht worden. In ihren Untersuchungsergebnissen waren bei Neugeborenen keine, bei Jugendlichen gehäuft, und mit zunehmendem Alter dann wieder immer weniger pathologische HAG-Titer zu finden. Da sich die Hepatitis hinsichtlich ihrer Altersverteilung ähnlich verhält, glaubten die Autoren, so die größere Häufigkeit hoher HAG-Titer bei Virushepatitis erklären zu können.

Das in der eigenen Arbeit untersuchte Krankengut ist hinsichtlich seiner Alterszusammensetzung nicht repräsentativ für die Hepatitis infektiosa. Die Patienten entstammten allen Altersklassen. Eine Abhängigkeit der HAG-Reaktion vom Lebensalter konnte nicht gefunden werden.

Jorke und Hoffmeyer haben in einer kürzlich erschienenen Arbeit nachweisen können, daß die von Jennings und Hindmarsh angenommene Korrelation zwischen Alter und HAG-Reaktion nur eine scheinbare ist, insofern, als die Häufigkeit positiver HAG-Titer in einer bestimmten Altersgruppe in etwa proportional der in diesem Alter vorkommenden Hepatitisfälle ist.

Die Brauchbarkeit des HAG-Testes auch bei älteren Patienten ist wichtig, da gerade im Alter häufiger differentialdiagnostische Schwierigkeiten, insbesondere gegenüber dem intra- und extrahepatischen Verschlußikterus auftreten (Havens).

Abschließend läßt sich über Vorkommen, Eigenschaften, Mechanismus und Bedeutung der HAG-Reaktion unter Berücksichtigung der Literatur auf Grund der eigenen Versuchsergebnisse folgendes sagen: Im menschlichen Blutserum kommen u.a. auch gegen Hühnerblutkörperchen und gegen Rhesusaffenblutkörperchen gerichtete Antikörper vor, mit denen eine Hämaggluti-

nationsreaktion durchführbar ist. Diese Reaktion ist bei Virushepatitis, aber in einem geringen Prozentsatz auch bei Hepatitis chronica und bei Lebercirrhose, sowie bei infektiöser Mononucleose (27) meist noch mit höheren Serumverdünnungen auslösbar, als bei anderen Krankheiten und bei Gesunden. Folgende Eigenschaften des hämagglutinierenden agens sind bekannt: Kältestabilität (18), Thermolabilität (18), Filtrierbarkeit mit Gradocolmembran bis zu 52 - 55 μ Porendurchmesser (17), die Fähigkeit im Kainchenserum Antiglobulin-Antikörperbildung auszulösen (15), Aktivitätsverminderung durch das Virucid β -pionolacton und durch UV-Bestrahlung (8,22).

Die agglutinierenden Faktoren gegen Rhesus- und gegen Hühnerblutkörperchen haben verschiedene immunologische Eigenschaften: Nach Absorbtion mit Hammelblutkörperchen werden Hühnererythrozyten unvermindert agglutiniert, nicht so die Blutkörperchen von Macaca Rhesus. (12).

Der Mechanismus der HAG-Reaktion ist noch nicht eindeutig geklärt. Für niedrigtiterige Seren scheinen Heteroagglutinine verantwortlich zu sein (8,22). Bei hochtiterigen Seren mögen noch zusätzliche Faktoren agglutinierende Wirkung haben. In Frage kommen:

1. das Virus selbst,
2. gegen das Virus gerichtete Antikörper mit heterophilen Eigenschaften,
3. Stoffe, die im Verlaufe der Erkrankung entstehen, z.B. Stoffe aus den Leberparenchymnekrosen oder durch sie verursachte Autoantikörper mit heterophilen Eigenschaften.

Manche Autoren haben die Möglichkeit erwogen, mit dem HAG-Test Hepatitisvirussträger aus den Blutspendern eliminieren zu können (5,7). Da der HAG-Test erlaubt, Kollektive von Patienten mit Virushepatitis von einer nicht-virushepatitis Kontrollgruppe zu unterscheiden, wird ihm epidemiologische Bedeutung zugemessen (26,27). Die von den meisten Autoren erwogene Möglichkeit eines je nach Höhe des HAG-Titers mehr oder weniger gewichtigen Argumentes für die Diagnose der Virushepatitis kann hier unterstrichen werden. Dies gilt besonders für die Differentialdiagnose gegenüber

dem Verschlußikterus. Dabei muß allerdings berücksichtigt werden, daß auch bei Leberparenchymschädigungen ohne Virus-ätiologie pathologische HAG-Titer aufzutreten scheinen.

Eine kritische Bemerkung muß hinzugefügt werden: Alle zur Frage der diagnostischen Brauchbarkeit des Testes durchgeführten Arbeiten waren auf eine sichere Diagnose der Virushepatitis oder Nicht-Virushepatitis angewiesen, einer Voraussetzung also, die gerade dort, wo die HAG-Methode sich als zusätzlicher Beweis bewähren soll, nicht gegeben ist.

Die großartige funktionelle Vielseitigkeit der Leber bringt es mit sich, daß die bisher im Laboratorium üblichen Lebertests immer nur Teilfunktionen dieses Organs beurteilen lassen. Um einen annähernden Eindruck von dem vollen Ausmaß einer Leberschädigung zu bekommen, sind daher immer eine Reihe von Untersuchungen nötig, die möglichst viele verschiedene Strukturen und Funktionsbereiche beleuchten sollen.

In diesem Sinne kann dem HAG-Test, bei dem bis jetzt keine direkte Abhängigkeit zu anderen Untersuchungsmethoden gefunden wurde, diagnostische Bedeutung zuerkannt werden.

ZUSAMMENFASSUNG

Es wurden bei insgesamt 460 Seren von Patienten mit Erkrankungen der Leber, Verschlußikterus und einer Kontrollgruppe Untersuchungen über ihr Verhalten im Hämagglutinationstest mit Erythrozyten erwachsener Hühner durchgeführt. Die Untersuchungsergebnisse wurden mit Befunden aus anderen Lebertests verglichen und die Frage nach der Brauchbarkeit des HAG-Tests in der Differentialdiagnose der Virushepatitis gestellt.

Folgende Resultate wurden erzielt:

- 1) Hämagglutinine gegen Hühnerythrozyten wurden bei fast allen Seren gefunden, bei Kontrollseren jedoch meist in niedrigerer Konzentration, als bei Patienten mit akuter Virushepatitis.
- 2) Kollektive mit akuter Virushepatitis lassen sich mit der HAG-Methode deutlich von Kontrollgruppen unterscheiden, die sich aus Patienten ohne Erkrankungen der Leber und aus Gesunden zusammensetzen.
- 3) Hohe HAG-Titer sind für die akute Virushepatitis nicht spezifisch, aber sie werden bei dieser Erkrankung häufiger, als bei anderen Erkrankungen und bei Gesunden gefunden.
- 4) Die HAG-Titer nehmen bei den meisten Patienten mit akuter Virushepatitis während des Krankheitsverlaufes ab.
- 5) Schnelles Abklingen oder Persistieren hoher HAG-Titer lassen keinen Schluß auf die Prognose der Erkrankung zu.
- 6) Die Chance, bei akuter Virushepatitis pathologische HAG-Titer anzutreffen, ist umso größer, je früher im Krankheitsverlauf die Untersuchung durchgeführt wird.
- 7) Der Ausfall der HAG-Reaktion ist im einzelnen nicht abhängig von den Befunden anderer Lebertests. Bei akuter Virushepatitis werden jedoch bei höheren Serumbilirubinwerten häufiger pathologische HAG-Titer, als bei niedrigeren gefunden. Der Zusammenhang zwischen diesen beiden Merkmalen ist aber nicht signifikant. Abhängigkeit des HAG-Tests bei der Virushepatitis von Veränderungen in der gamma-Globulinfraktion ist in unserem Material nicht erkennbar.

- 8) Die Häufigkeit pathologischer HAG-Titer bei chronischen Lebererkrankungen ist größer, als bei der Kontrollgruppe, jedoch deutlich geringer, als bei der akuten Virushepatitis.
- 9) Korrelationen zwischen HAG-Test, Serumbilirubin und Transaminasenaktivität sind weder bei Hepatitis chronica, noch bei Cirrhosis hepatis erkennbar.
- 10) Bei Cirrhosis hepatis finden sich pathologische HAG-Titer häufiger bei niedrigerem Albumingehalt des Serums. Ein signifikanter Zusammenhang zwischen erhöhtem gamma-Globulingehalt und positivem HAG-Test wird bei der hier untersuchten Stichprobe nicht gefunden.
- 11) Bei wahrscheinlich posthepatitischen Lebercirrhosen sind pathologische HAG-Titer nicht häufiger, als bei Cirrhosen ohne Hepatitis in der Anamnese. Die Häufigkeit pos. HAG-Titer ist auch bei postnekrotischer Lebercirrhose nicht größer, als bei anderen Formen der Cirrhose.
- 12) Bei Steatosis hepatis werden pathologische HAG-Titer nicht gehäuft gefunden.
- 13) Bei Verschlußikterus werden nur selten pathologische HAG-Titer gefunden.
- 14) In der Differentialdiagnose der Virushepatitis gegenüber dem Verschlußikterus kann ein pathologischer HAG-Titer als zusätzliches, keineswegs aber allein ausschlaggebendes, Zeichen für die Virushepatitis gewertet werden.
- 15) Mit zunehmender Höhe des Titers steigt die Wichtigkeit des Zeichens für die akute Virushepatitis.
- 16) Die differentialdiagnostische Brauchbarkeit des Testes wird geschmälert durch die Möglichkeit, daß
 - a) bei Verschlußikterus ein gleichzeitig vorhandener Leberschaden,
 - b) ein durch den Verschluß selbst oder durch das den Verschluß verursachende Grundleiden bewirkter Leberschaden offenbar erhöhte HAG-Titer bedingen kann.
- 17) Alter und Geschlecht zeigen keinen Einfluß auf die HAG-Reaktion.

Schrifttumsverzeichnis

1. Deicher, H. "Über die Erzeugung heterospezifischer Hämagglutinine durch Injektion artfremden Serums"
Z. Hygiene 106 (1926) 561 - 568
2. Lippelt, H. "Die Heterohämagglutination"
Nogalski, J. Z. Hygiene 136 (1953)
170 - 199 (1. Mitteilung)
476 - 500 (2. Mitteilung)
3. Hartmann, F. "Preparation and sterilisation of
LoGrippo, G. bloodplasma"
Kelley, A.R. Am. J. Clin. Pathol. 24 (1954)
339 - 346
4. Schmidt, H. "Fortschritte der Serologie"
Darmstadt/Steinkopff (1955)
5. Hoyt, R. "Reaction of viral hepatitis with
Morrison, M. Macaca Rhesus erythrocytes"
Proc. Soc. Exper. Biol. and Med.
93 (1956) 547 - 549
6. Morrison, M. "Further experience with hemagglutination in viral hepatitis"
Hoyt, R. Amer. J. Gastroent. 33 (1960)
Levine M. 461 - 466
Rosenthal M.
Stevens R.
7. Hoyt, R. "The hemagglutination reaction for
Levine M. viral hepatitis in the differential
Rosenthal, M. diagnosis of jaundice"
Stevens, M. Amer. J. Gastroent. 34 (1960)
Holeman, R. 152 - 155
8. Rubin, B.A. "Mechanism of agglutination of
Kemp, H.A. Macaca Rhesus erythrocytes by human
Bennett, H.D. hepatitis serum"
Science 126 (1957) 1117 - 1118

9. Morrison, M.
Hoyt, R. " Hemagglutination reactions
noted in viral hepatitis"
J. Lab. Clin. Med. 49 (1957)
774 - 778
10. Siede, W. "Virushepatitis und Folgezustände"
Lpz.: Barth 1958
11. Siede, W.
Schneider, H. "Leitfaden und Atlas der Laparo -
skopie"
München: Lehmann 1962
12. Mc. Collum, R.W.
Bech, V. "Hemagglutinins in viral hepatitis"
Amer. J. Med. 5 (1959)
703 - 707
13. Jennings, E.R.
Hindmarsch, C. "Hemagglutination test for viral
hepatitis with special reference
to nospecific reaction"
J. Lab. Clin. Med. 55 4-6 (1960)
519 - 521
14. Morris, J.A.
Nakakura, K. "Hemagglutination reaction in in-
fectious hepatitis"
J. Lab. Clin. Med. 55 (1960)
726 - 732
15. Hoyt, R.
Morrison, M "The nature of hemagglutinating
agent noted in the blood serum of
patients"
J. Lab. Clin Med. 58 (1961)
104 - 106
16. Taylor, A.R.
Rightsel, W.A. "Tissue culture of hepatitis virus"
Amer. J. Med. 32 (1962) 679 - 703
17. Havens, W.P. "Viral Hepatitis"
Amer. J. Med. 32 (1962) 665 - 678

18. Szésey, Gy.
Dóbiás, Gy.
"Untersuchungen über direkte
Hämagglutination bei Leberer-
krankungen"
Z. Immun. Forschung 124 (1962)
11 - 21

19. James, R.
Mc. Arthur
Nuala Crowley
"An epidemicoligal study of
hemagglutinationin hepatitis."
J. Clin. Path. 15 (1962) 494 - 496

20. Turner, P.
Crowley, N.
Sherlock, Sh.
"Hemagglutination in acute hepatitis
and other deseases"
J. Clin. Path. 15 (1962) 491 - 493

21. Walter, T.
Wilanowska, J.
Czupris, F.
Walter, Z.
"Über den Wert der He terohämagglu-
tinationsreaktion in der Diagnostik
der hepatitis epidemica"
Z. ärztl. Fortbild. 56 (1962)
479 - 481

22. Wiedermann, G.
Beyreder, J.
Krausleder, J.
"Die Hämagglutination von Rhesus-
affenerythrozyten durch das Serum
von Hepatitiskranken"
Zbl. Bakt. 1. Orig. 188 (1963) 2,
139 - 149

23. Haas, R.
"Stellung und Möglichkeiten serolo-
gischer Methoden im Rahmen der
Virusdiagnostik"
Med. Klin. (1963) 161 - 166

24. Frenger, W.
Scheiffarth, F.
Sperling, U.
"Vorkommen und Bedeutung der direk-
ten Heterohämagglutination bei
Virushepatitis"
Z. Gastroent. 1 (1963) 351 - 357

25. Erb, W.
Siede, W.
"Die Serumtransaminasenaktivität
in Beziehung zum bioptischen und
biochemischen Befund bei Leber-
krankheiten."
Z. Gastroent. 2 (1964) 187 - 200

26. Jorke, D.
Hofmeyer, O. "Hämagglutinationsreaktion bei
Hepatitis infectiosa"
Med. Klin. 43 (1964) 1699 - 1703
27. Signer, E. "Hämagglutination von Macaca Rhesus-
Erythrozyten durch Seren von Pa-
tienten mit Virushepatitis und in-
fektöser Mononucleose"
Z.f. Hyg. 149 (1963) 152 - 163
28. Mathila, S. "Agglutinin of Macaca Rhesus
erythrocytes by human hepatitis
serum"
Ann. med. exp. Fenn. 38 (1960)
243 - 246
29. Colobert, L.
Maitre, P.
Duffrene, A. "Hämagglutination des hématies de
singe et hépatite infectieuse"
Ann. Inst. Past. 97 (1959)
560 - 570
30. Havens, W.P. "Hemagglutination in viral hepatitis"
New Engl. J. Med. 259 (1958)
1202 - 1206
31. Gramlich, F.
Müller, H.E. "Heterohämagglutination in der
Diagnostik der Virushepatitis"
MMW 42/1965 S 2049-54
32. Mittenecker, E. "Planung und statistische Auswertung
von Experimenten"
Wien: Deuticke 1963

ANHANG

Aus dem Versuchsprotokoll

Tabelle I: Ergebnisse bei akuter Virushepatitis

Tabelle II: Ergebnisse bei Hepatitis chronica

Tabelle III: Ergebnisse bei Cirrhosis hepatis

Berechnung des Zusammenhangs zwischen HAG-Test und
anderen Lebertests. Signifikanzberechnungen.

Tabelle: I Ergebnisse bei akuter Virushepatitis

Fall Nr.	Se- rum Nr.	HAG-Re- aktion Std. 2 16-18	2) Ikt.- Woche	3) Bilirubin ges./dir.	4) Transami- nase SGOT/SGPT	5) Ta ka	6) Thy mol min	7) Albu- Globuline α_1 α_2 β γ
7	7 19	32 32 32 256		13,0/12,0 21,0/-	75/125 -/88			
10	10 25	8 32 8 4	2. 3.	3,4/2,5 0,9/0,55	710/993 110/216	60 7	51,0	4,0 6,0 17,0 22,0
14	15 24 51 70 85 246	8 8 2 2 32 64 4 128 4 32 - 4	2. 3. 4. 5. 6. Mon. 3-4.	9,5/6,0 19,5/17,5 2,8/1,7 - - 1,3/0,8 - -	1705/1488 572/656 255/120 120/162 68/68 37/36	30 26	48,0	4,0 7,0 10,0 31,0
29	34 57 71 86 138 218	8 8 16 16 64 64 256 256 16 16 8 8	6. 7. 8. 9. 12. Mon. 3-4.	10,5/8,0 8,3/5,9 - - 16,0/14,5 4,2/3,1 1,5/0,9	640/1260 -/1358 -/1664 -/1239 122/588 30/42	70	59,0	4,0 8,0 19,0 17,0
36	42	16 256	Mon. 8.	- -	-/58			
59	72	32 128	5.	- -	28/88		54,0	5,0 8,0 12,5 20,5
66	83 96 113	16 128 8 8 8 16	1. 2. 3.	3,4/2,8 2,5/1,5 1,25/0,7	1452/2478 440/1050 68/290	60 7	56,0	4,5 6,5 13,0 20,0
67	87	16 128		1,3/0,7	179/94	60	46,0	3,5 7,0 16,5 27,0
69	89 101 124	256 512 8 64 4 32	4. 5. 6.	17,0/12,0 7,9/6,0 4,8/3,7	832/1014 189/308 88/104	40 35	46,0	4,0 6,0 14,0 30,0

- 1) 1: Titer, abgelesen nach 2 bzw. 16-18 Stunden
 2) Wochen nach Ikterusbeginn
 3) mg/ 100 ml
 4) Wroblewski-Einheiten
 5) nach Mancke-Sommer mg % HgCl₂
 6) Mc Lagan-Einheiten
 7) rel. %

Fortsetzung der Tabelle:^I

Fall Nr.	Se- rum Nr.	HAG-Re- aktion Std.		Ikt.- Woche	Bilirubin ges./dir.	Transami- nase SGOT/SGPT	Ta- ka ta	Thy- mol min	Albu- min	Globuline			
		2	16-18							α_1	α_2	β	γ
70	90	64	256	1.	11,5/10,0	689/2236	30	24	47,0	4,0	7,0	11,0	31,0
	106	8	32	2.	2,6/1,7	232/539							
	128	16	128	3.	1,5/1,1	198/476							
	143	8	128	4.	1,1/0,5	123/392							
	222	8	64	8.	0,9/0,45	160/372							
	235	4	64	9.	-	181/504							
	253	4	16	10.	-	92/245							
	272	-	64	11.	0,5/0,25	99/304							
98	131	32	128	2.	7,8/6,2	1040/2525	60	7	53,5	5,5	9,0	12,0	20,0
	147	16	128	3.	-	108/880							
	165	8	64	4.	1,0/0,5	90/310							
	190	4	32	5.	-	79/164							
87	114	16	256	2.	13,0/11,5	800/1536	40	13	47,0	3,0	5,5	8,5	36,0
	122	32	256	3.	19,0/14,5	72/387							
	139	16	256	4.	20,5/19,5	68/114							
	155	16	128	4.	-	99/-							
	174	8	128	5.	20,5/20,0	108/180							
	204	2	16	6.	29,0/21,0	156/185							
	216	2	32	7.	25,0/25,0	144/198							
	234	32	128	8.	43,0/-	120/180							
91	120	16	128	2.	6,1/4,1	260/340	90	10	49,0	6,0	9,0	12,0	24,0
	156	16	128	3.	7,5/6,5	936/1246							
	164	32	128	4.	13,5/10,0	1026/1280							
	189	32	128	5.	4,3/3,3	200/528							
	211	128	512	6.	-	89/294							
	227	32	128	7.	1,4/0,8	97/240							
	248	32	64	8.	-	34/112							
	271		32	9.	-	50/118							
	333		32	Mon. 4.	-	49/120							
97	130	512	512	2.	2,0/1,0	-	80	11	57,0	4,0	9,0	11,0	19,0
	154	64	256	3.	-	2002/1617							
	170	8	256	4.	-	792/1827							
	202	64	256	6.	0,6/0,5	60/360							
	219	64	512	7.	-								
						36/70							
	229	8	32	8.	-	19/36							
	243	4	16	9.	-	15/20							
101	134	4	128	1.	6,9/5,3	785/902	50	23	50,0	5,0	7,0	12,0	26,0
	140	8	256	2.	9,5/7,2	810/689							
	161	8	64	3.	3,9/2,9	693/728							
	206	32	128	5.	-	215/186							
	230	ø	4	6.	0,85/0,75	22/34	60	22	49,0	3,0	8,0	14,0	26,0
	236	2	32	7.	0,7/0,35	-							

Fortsetzung Tabelle: I...

Fall Nr.	Se- rum Nr.	HAG-Re- aktion Std.		Ikt.- Woche	Bilirubin ges./dir.	Transami- nase SGOT/SGPT	Ta ka	Thy mol ta	Albu- min	Globuline				
		2	16-18							α_1	α_2	β	γ	
119	162	8 8 4 64 16 128		- 9. 11.	- - 1,1/0,7 - -	108/204 43/84 29/60	60	13	48,0	4,0	8,0	13,0	27,0	
133	132 200 217 231 247	64 512 32 64 16 128 32 128 16 64		1. 2. 3. 4. 5.	6,0/5,1 2,5/1,6 - - 0,85/0,7 - -	624/1023 465/924 165/405 37/120 15/27	90	6	56,0	5,0	7,0	12,0	20,0	
134	183 212 232 244 277	8 128 32 128 32 128 2 32 - 64		3. 4. 6. 7. 9.	19,5/13,0 - - 4,2/3,05 - - - -	407/560 205/210 42/62 38/34 7/17	40	14	49,0	4,0	5,0	9,5	32,5	
137	188 215 225 255 266	16 128 32 128 32 128 8 64 - 64		3. 4. 5. 6. 7.	4,4/3, 1,45/0,8 - - - - - -	539/1659 60/234 31/117 28/50 23/56	80	10	53,5	3,5	7,0	14,0	22,0	
141	194 220 223	- 64 8 32 4 32		1. 3. 4.	- - 0,55/0,4 - -	594/1122 122/231 101/150	90	10	51,5	4,0	10	13,5	21,0	
148	207 233	8 64 4 16		3. 4.	- - 8,75/7,75	914/1111 264/418	50	19	46,0	5,0	10,5	12,5	26,0	
153	214 228 254 276	32 128 32 128 16 64 - 64		1. 2. 3. 4.	- - 1,25/0,95 - - - -	441/880 105/407 57/138 47/118	80	11	55,5	3,5	7,0	13,0	21,0	
162	249 278	Ø 2 Ø 8			1,85/1,3 - -	1782/1515 488/1166								
174	264 293	- 128 - 64		1. 3.	8,0/7,4 1,05/0,7	295/384	50	34	49,0	3,0	9,0	11,0	28,0	
187	284 301 304 311 343	- 128 - 128 - 64 - 64 - 32		2. 3. 4. 5. 7.	- - 0,9/0,7 - - 0,35/0,15 0,9/0,3	348/660 98/163 136/240 432/693 365/780			49,0	3,0	8,0	13,0	27,0	
188	285 371	- 128 - 8				206/1176 59/46			51,0	2,5	10,5	12,5	23,5	

Fortsetzung der Tabelle: ..I..

Fall Nr.	Se- rum Nr.	HAG-Re- aktion Std.	Re- 2 16-18	Ikt.- Woche	Bilirubin ges./dir.	Transami- nase SGOT/SGPT	Ta ka ta	Thy- mol min	Albu- min	Globuline				
										α_1	α_2	β	γ	
196	294	- 128		2.	- -	204/378	80	13	54,0	4,0	11,0	12,0	19,0	
	295	- 128		3.	- -	98/195								
	305	- 64		4.	0,6/0,35	43/78								
202	302	8 128		2.	11,8/9,8	2560/4421	90	8	59,0	5,0	7,5	9,5	19,0	
	313	- 8		3.	2,7/1,35	169/494								
	344	- 32		4.	1,3/0,6	46/170								
	345	- 32		5.	1,6/0,9	41/86								
203	303	64 256		1.	4,9/2,9	1134/1869	80	11	56,0	3,0	7,0	12,0	22,0	
	315	- 128		2.	1,1/0,75	144/429								
	325	- 128		3.	- -	- -								
	342	- 128		4.	0,75/0,35	79/90								
211	316	- 64			- -	- -								
212	317	- 64			- -	- -								
214	319	- 32			- -	- -								
221	327	- 128		1.	8,0/5,8	600/1872	70	10	50,0	4,5	8,5	14,0	23,0	
	337	- 32		2.	- -	- -								
229	338	- 128		3.	5,3/4,5	1222/1449	70	12	46,0	5,0	10,5	13,5	25,5	
233	350	- 128			- -	- -								
	354	- 128			23,0/17,0									
237	355	- 128		3.	17,3/16,3	2120/3162								
	392	- 64		8.	- -	32/32								
253	378	- 128		2.	12,75/ 10,75	1314/1170	70	19	60,0	4,0	7,0	13,0	16,0	
	389	- 128		3.	5,2/4,3	1331/1176								
	395	- 64		4.	- -	190/228								
	401	- 64		5.	- -	60/68								
	435	- 64			0,6/0,3	27/22								
254	379	- 256			5,4/4,1	1030/1260								
	387	- 256			- -	860/1288								
	403	- 128			- -	121/495								
	434	- 64			- -	113/202								
257	382	- 32		4.	1,2/0,7	39/128								
262	390	- 128		6.	- -	- -								
263	391	- 128		5.	- -	- -								
269	402	- 128		2.	- -	1716/ 1568								

Fortsetzung der Tabelle : ...I...

Fall Nr.	Se- rum Nr.	HAG-Re- aktion Std.	Dkt.- Woche	Bilirubin ges./dir.	Transami- nasen SGOT/SGPT	Ta Thy Albu- ka mol min ta	Globuline
		2 16-18					
272	410	- 256	1.	7,2/6,3	1224/2574		
	421	- 256	2.	1,0/0,65			
275	413	- 32	2.	15,5/12,5	124/140	50 25	
	428	4 32		1,./	49/69		
277	415	- 64		- -	879/1002		
279	419	- 128		- -	1209/1237		
283	426	4 16	2.	13,0/12,0	772/1133		
	433	- 16	3.	- -	1127/1173		
	437	- 64	4.	25,0/12,5	860/1074		
	450	- 32		- -	1112/776		
287	431	32 64		- -	660/1092		
	440	- 128		0,45/0,2	90/261		
290	438	- 128	3.	2,5/-	926/1334		
291	439	- 64	2.	4,66/-	- -		
292	442	- 64	1.	- -	714/1023		
	456	- 64	2.	- -	251/588		
293	443	- 32	1.	- -	644/1440		
	457	- 32	3.	0,9/-	44/125		
294	444	- 128		- -	595/963		
301	452	- 128	1.	- -	605/1716		
303	454	- 256		1,1/0,45	78/208		
304	455	- 128	1.	- -	- -		

II
Tabelle:..... Ergebnisse bei Hepatitis chronica
(einschl. protrahierender und persistierender Hepatitis)

Fall Nr.	Se- rum Nr.	HAG-Re- aktion Std.		Ikt.- Woche	Bilirubin ges./dir.	Transami- nase SGOT/SGPT	Ta ka ta	Thy mol min	Albu- min	Globuline			
		2	16-18							α_1	α_2	β	γ
1	1	Ø	32		- -	74/156	60	16	56,5	3,5	6,0	12,0	52,0
20	22	32	64		- -	-/164	50	-	52,5	3,0	7,5	10,5	26,5
	35	2	4		- -	-/240							
30	36	4	16		- -	99/-							
34	40	4	16		0,8/0,55	-/54	70	-	60,0	5,0	6,0	10,0	19,0
35	41	16	128		- -	- -	80						
37	43	16	64		- -	89/-	60	14					
45	53	Ø	8		- -	86/216							
47	56	32	256		- -	34/46	-	-	54,0	4,0	8,0	12,0	32,0
	152	64	128		- -	31/44	90	3					
49	59	32	256		- -	-/80							
50	60	8	128		0,8/0,5	61/158							
	346	8	8		- -	284/450							
	441	-	32		- -	56/84							
53	63	32	128		1,2/0,5	56/26	70	2	54,0	5,0	9,0	12,0	20,0
55	66	Ø	32		- -	- -							
64	81	4	64		- -	65/79	70	6	49,0	4,0	10	12,0	25,0
80	104	2	16		- -	24/33	100	15	52,0	4,0	9,0	11,0	24,0
81	105	Ø	8		0,8/0,6	327/345							
86	111	Ø	4		- -	-/84	-	-	54,0	4,0	7,5	12,5	22,5
120	166	128	256		- -	23/-	80	4	53,0	4,0	7,0	14,0	22,0
121	167	64	512		- -	-/24							
122	168	64	512		- -	28/-							
140	193	-	32		- -	15/16	90	2	62,0	3,0	6,5	8,5	19,0
142	195	-	32		- -	30/13							
151	210	4	64		0,7/0,6	30/19	-	-	54,0	3,0	8,0	16,0	23,0
191	288	-	128		- -	86/120							
232	349	-	64		0,2/0,1	22/21							
242	361	-	64		0,8/0,55	126/110	40	25	48,5	3,5	9,0	11,0	28,0
247	368	-	16		- -	39/12							
256	381	-	32		- -	21/11	30	18					
284	427	8	32		3,4/2,6	97/130							
288	430	-	64		- -	80/140							

Tabelle: .III Ergebnisse bei Cirrhosis hepatis.

Fall Nr.	Se- rum Nr.	HAG-Re- aktion Std.		Bilirubin ges./dir.	Transami- nase SGOT/SGPT	Ta- ka- ta	Thy- mol	Albu- min	Globuline			
		2	16-18						α_1	α_2	β	γ
4	4	32	64	- -	52/34	70	-	54,0	5,0	9,0	11,0	21,0
5	5	8	8	- -	21/-	-	-	57,0	3,0	6,5	11,5	22,0
8	8	0	0	- -	58/45	-	-	-	-	-	-	-
	49	32	512	- -	106/252	-	-	52,0	4,0	10,0	10,0	24,0
11	12	256	512	- -	- -	-	-	-	-	-	-	-
9	9	0	64	1,1/0,8	309/414	40	8	50,0	9,0	9,0	12,0	28,0
15	16	0	8	- -	- -	-	-	27,0	2,5	4,5	11,0	55,0
	118	0	8	17,5/15	93/-	< 30	19	-	-	-	-	-
17	18	2	4	20,6/20,0	909/497	-	-	36,0	5,0	3,0	9,0	48,5
	26	0	4	2,4/1,4	248/202	-	-	-	-	-	-	-
18	20	2	4	- -	210/360	-	-	51,0	3,0	7,0	12,0	27,0
22	27	8	32	1,6/0,8	57/30	-	-	-	-	-	-	-
25	30	8	128	- -	68/-	30	-	36,0	3,0	5,0	8,5	47,5
26	31	8	64	0,95/0,25	23/27	60	13	51,5	3,5	10,5	13,0	22,0
32	38	4	128	1,5/0,6	84/106	90	-	54,0	4,0	9,5	12,0	20,0
43	50	4	8	- -	128/-	-	-	-	-	-	-	-
44	52	4	64	- -	120/44	-	-	-	-	-	-	-
	64	16	32	5,5/3,6	86/38	-	-	-	-	-	-	-
40	55	2	16	- -	51/45	-	-	48,0	4,0	6,0	9,0	33,0
51	61	16	64	0,75/0,55	93/86	60	-	50,0	3,5	8,5	13,0	25,0
52	62	8	128	2,2/1,2	46/56	< 30	-	52,0	4,0	7,0	8,0	29,0
54	65	8	64	- -	- 64	-	-	57,0	3,0	9,0	12,0	19,0
57	68	8	16	1,8/0,6	31/19	-	-	-	-	-	-	-
63	76	16	32	- -	55/62	-	-	-	-	-	-	-
65	82	4	16	0,65/0,3	21/15	90	3	64,0	4,5	7,5	11,0	13,0
67	84	4	128	3,4/2,8	585/594	40	22	33,0	5,0	6,0	11,0	45,0
	97	0	16	2,4/1,9	- -	-	-	-	-	-	-	-
68	88	16	128	7,8/6,0	552/494	< 30	-	-	-	-	-	-
	129	64	128	- -	- -	-	-	-	-	-	-	-
71	91	4	32	2,8/1,2	336/118	40	-	-	-	-	-	-
74	94	16	128	2,6/1,9	572/572	< 30	-	34,0	4,0	4,0	9,0	49,0
78	100	32	256	3,2/2,5	- 124	-	-	47,0	5,0	8,0	17,0	23,0
82	107	32	128	3,0/2,1	600/595	< 30	-	46,0	5,0	6,0	11,0	32,0
95	126	32	256	2,1/1,2	84/44	-	-	-	-	-	-	-
100	133	4	64	1,1/0,7	25/-	-	-	-	-	-	-	-
104	137	8	32	- -	39/106	-	-	57,0	4,0	8,0	11,0	20,0
106	142	8	128	15,0/14,0	402/272	< 30	12	45,0	3,0	8,0	17,0	27,0
116	158	8	32	5,6/4,9	- -	40	7	-	-	-	-	-
	184	0	32	- -	- -	-	-	-	-	-	-	-
138	191	0	8	6,7/5,3	2299/1147	30	7	48,5	3,5	7,0	12,0	29,0
	205	4	16	- -	1694/809	-	-	-	-	-	-	-
163	250	8	16	0,65/0,35	52/75	50	15	49,5	3,0	7,5	14,0	26,0
176	267	-	32	0,6/0,25	482/702	-	-	-	-	-	-	-

Fortsetzung Tabelle: III.

Fall Nr.	Se- rum Nr.	HAG-Re- aktion Std.		Bilirubin ges./dir.	Transami- nase SGOT/SGPT	Ta- ka- ta	Thy- mol	Albumin	Globuline			
		2	16-18						α_1	α_2	β	γ
179	273	-	128	1,5/0,9	90/76	-	-					
181	275	-	256	7,9/5,9	673/372	-	-					
186	283	-	128	1,2/0,6	73/102	90	3	58,0	2,5	7,0	11,0	21,0
190	287	-	128	0,55/0,35	26/60	-	-	47,0	3,5	10,0	10,0	29,0
199	298	-	32	1,7/1,2	76/59	-	-	48,0	2,5	6,5	9,0	34,0
201	300	-	128	-	-	-	-					
225	331	-	256	20,0/14,5	2816/2860	<30	29					
	332	-	128	23,2/16,0	-	-	-					
	372	-	128	-	280/392	-	-					
230	339	-	128	6,1/5,4	144/80	<30	25	32,0	4,0	9,0	13,0	42,0
	357	-	32	-	-	-	-					
238	356	-	32	6,1/4,9	1182/1100	-	-					
	376	-	64	-	170/246	-	-					
239	358	-	64	5,3/4,2	-	-	-					
	372	-	32	-	177/118	-	-					
246	367	-	8	-	40/26	-	-					
278	418	-	64	1,8/1,1	171/124	<30	26	39,0	4,0	4,0	9,0	44,0
298	448	-	256	-	142/166	-	-					

Zusammenhang zwischen HAG-Test und anderen Lebertests.

Signifikanzberechnung.

Allgemeines:

Um die Enge des Zusammenhangs zwischen HAG-Test und anderen Lebertests auszudrücken, wird der sogenannte "Punkt-Vierfelderkorrelationskoeffizient" verwendet. Dabei werden die einzelnen Tests als qualitative Alternativmerkmale der jeweiligen Erkrankung aufgefaßt(z.B. HAG-Test $\oplus$ und HAG-Test $\ominus$ oder gamma-Globulinwerte ≥ 2 g% = hoch $\oplus$ und gamma-Globulinwerte < 2 g% = niedrig $\ominus$). Das Ergebnis einer Stichprobe läßt sich dann in einem Vierfelderschema folgendermaßen zusammenfassen:

a,b,c,d, = Anzahl der Versuchspersonen mit den beiden dem betreffenden Feld zugehörigen Merkmalen
 $a+b+c+d = N$ = Gesamtzahl der Versuchspersonen

		Merkmal I	
		+	-
Merkmal II	+	a	b
	-	c	d

Der "Punkt-Vierfelderkorrelationskoeffizient (r_{Phi})" errechnet sich aus der Formel:

$$r_{\text{Phi}} = \frac{ad - bc - N/2}{\sqrt{(a+b)(c+d)(a+c)(b+d)}}$$

Die Grenzwerte des Punkt-Vierfelderkorrelationskoeffizienten bedeuten vollkommene positive Korrelation ($=+1$) und vollkommene negative Korrelation ($=-1$).

Die Frage, ob eine Korrelation mit dem Stichprobenwert r_{Phi} signifikant ist, kann mit der χ^2 -Methode entschieden werden:

$$\chi^2 = N \cdot r_{\text{Phi}}^2 .$$

Berechnungen: Merkmal II ist immer der HbG-Test.

1) Korrelation zwischen HbG-Test und Serumbilirubinspiegel.

Merkmal I: Bilirubin $>5,0$ mg% = hoch = +
 " 1,0-5,0 mg% = niedrig = -

a) Die Zahlenwerte aus der Tab. 1 ergeben folgendes Vierfelderschema:

		Merkmal I		
		+	-	
Merkmal II	+	24	10	N = 73
	-	12	21	

$$r_{\text{Phi}} = \frac{504 - 182 - 70/2}{\sqrt{40 \cdot 33 \cdot 36 \cdot 37}} = \frac{275,5}{1326} = 0,21$$

$$\chi^2 = 73 \cdot 0,21^2 = \underline{2,92}$$

Bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $\alpha = 5\%$ ist bei einem Freiheitsgrad von $df = 1$ der kritische Wert für $\chi^2 = 3,841$. Da der gefundene Wert von $\chi^2 = 2,92$ kleiner ist, besteht für die Annahme einer Korrelation zwischen positivem HbG-Test und hohem Serumbilirubinspiegel (>5 mg%) keine Signifikanz.

b) Für die Zahlenwerte der Tabelle 2 ist

$$r_{\text{Phi}} = \frac{102 - 2 - 17,5}{256} = 0,252 \text{ und}$$

$$\chi^2 = 25 \cdot 0,25^2 = \underline{2,1}$$

Auch hier besteht also kein signifikanter Zusammenhang.

2. a) Korrelation zwischen HbG-Test und relativen gamma-Globulinwerten.

Merkmal I: gamma-Globulinwerte ≥ 31 = hoch = +
 ≤ 21 = niedrig = -

		+	-
Merkmal II	+	5	2
	-	5	4

$$r_{\text{Phi}} = \frac{20 - 10 - 8}{\sqrt{7 \cdot 9 \cdot 10 \cdot 6}} = \frac{2}{61,5} = 0,03$$

- b) Korrelation zwischen HAG-Test und absoluten gamma-Globulinwerten.

Merkmal I: gamma-Globulin $\geq 2,0 = +$

$< 2,0 = -$

	+	-
+	7	6
-	2	10

$$r_{\text{Phi}} = \frac{70 - 18 - 13}{\sqrt{13 \cdot 13 \cdot 10 \cdot 16}} = \frac{39}{164} = 0,23$$

$$\chi^2 = 26 \cdot 0,23^2 = \underline{1,37}$$

$$\text{df} = 1$$

Bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $\alpha = 5\%$ ist bei $\text{df} = 1$ der kritische Wert für $\chi^2 = 3,841$. Da der gefundene Wert $\chi^2 = 1,37$ kleiner ist, besteht für die Annahme eines Zusammenhangs zwischen positivem HAG-Test und hohen gamma-Globulinwerten ($\geq 2,0 \text{ g\%}$) keine Signifikanz.

- 3) Korrelation zwischen HAG-Test und Albuminwerten (rel.%).

Merkmal I: Albumine $< 48 = +$

$\geq 48 = -$

	+	-
+	8	3
-	4	15

$$r_{\text{Phi}} = \frac{104 - 12 - 14}{\sqrt{11 \cdot 17 \cdot 13 \cdot 16}} = \frac{78}{190} = 0,41$$

$$\chi^2 = 28 \cdot 0,4^2 = \underline{4,48}$$

Da der gefundene Wert $\chi^2 = 4,48$ größer ist als der kritische Wert $\chi^2 = 3,841$, ist die Annahme eines Zusammenhangs zwischen positivem HAG-Test und niedrigen Albuminwerten ($< 48 \text{ rel.\%}$) bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $\alpha = 5\%$ signifikant.

Herrn Prof. Dr.med. W. Siede spreche ich an
dieser Stelle für die Überlassung des Themas
und für sein Interesse am Fortgang der Arbeit
meinen besonderen Dank aus.

Lebenslauf

Ich, Anton Pencz, wurde am 6.6.1933 als Sohn des Bauern Anton Pencz und seiner Ehefrau Elisabeth, geb. Müller in Gara/Ungarn geboren.

Mit 6 Jahren kam ich zur Grundschule.

1948 wurden meine Eltern wegen ihrer deutschen Nationalität aus Ungarn vertrieben.

Ab Herbst 1950 besuchte ich dann in Beuerberg/Obb. das Realgymnasium.

Ostern 1952 zogen wir nach Darmstadt um. Hier besuchte ich das Ludwig Georgs-Gymnasium. Im Februar 1959 legte ich die Reifeprüfung ab.

Nach dem einjährigen Grundwehrdienst bei der Bundeswehr begann ich im SS 1960 an der Justus Liebig Universität in Giessen das Studium der Medizin. Nach dem 5. Semester bestand ich hier das Physikum. Im 7. Semester besuchte ich die Karl Franzens- Universität zu Graz in Österreich. Die letzten 4 Semester verbrachte ich an der Johann Wolfgang Goethe- Universität in Frankfurt am Main bis zum Staatsexamen im WS 1965/66.

Darmstadt, den 18. 7. 1966

Anton Pencz

Verzeichnis meiner akademischen Lehrer:

Prof. Dr. D. v. Denffer	Botanik
Prof. Dr. F. Kröhnke	Chemie
Prof. Dr. W. Hanle	Physik
Prof. Dr. W.E. Ankel	Zoologie
Prof. Dr. H. Rollhäuser	Anatomie
Prof. Dr. H. Starck	Anatomie
Prof. Dr. H. Frick	Anatomie
Prof. Dr. R. Thauer	Physiologie
Prof. Dr. H.J. Staudinger	Physiologie, Chemie
Prof. Dr. W. Sandritter	Pathologie
Prof. Dr. W. Rotter	Pathologie
Prof. Dr. H. Lapp	Pathologie
Prof. Dr. Ratzenhofer	Pathologie
Prof. Dr. H. Zimmermann	Pathologie
Prof. Dr. W. Grab	Pharmakologie
Prof. Dr. P. Holtz	Pharmakologie
Priv. Doz. Dr. Palm	Pharmakologie
Prof. Dr. B. Kemkes	Hygiene
Prof. Dr. K. Herzberg	Hygiene
Priv. Doz. F. Heiss	Hygiene
Prof. Dr. F. Hoff	Innere Medizin
Prof. Dr. J. Frey	Innere Medizin
Prof. Dr. W. Siede	Innere Medizin
Prof. Dr. R. Altmann	Innere Medizin
Prof. Dr. P. Christ	Innere Medizin
Prof. Dr. H. Voegt	Innere Medizin
Priv. Doz. Dr. Winter	Innere Medizin
Prof. Dr. Gotsch	Innere Medizin
Prof. Dr. H. Hildebrand	Innere Medizin
Prof. Dr. K. Schöpfling	Innere Medizin
Prof. Dr. J. Zutt	Neurol. u. Psych.
Prof. Dr. Bertha	Neurol. u. Psych.
Priv. Doz. Dr. R. Degkwitz	Neurol. u. Psych.
Prof. Dr. H. Richter	Psychosomatik
Prof. Dr. R. Geißendörfer	Chirurgie
Prof. Dr. Spath	Chirurgie

Prof. Dr. H. Westermann	Chirurgie
Priv. Doz. Dr. Stiller	Chirurgie
Priv. Doz. Dr. Hirsch	Chirurgie
Prof. Dr. E. Güntz	Orthopädie
Prof. Dr. O. Käser	Gynäkologie
Prof. Dr. L. Heller	Gynäkologie
Prof. Dr. A.W. Schwenzer	Gynäkologie
Priv. Doz. Dr. A. Öhlert	Gynäkologie
Prof. Dr. F. Hermann	Hautkrankheiten
Prof. Dr. E. Landes	Hautkrankheiten
Prof. Dr. R. Thiel	Augenheilkunde
Priv. Doz. Dr. Otto	Augenheilkunde
Prof. Dr. J. Gerchow	Gerichtsmedizin
Prof. Dr. Hövels	Kinderheilkunde
Prof. Dr. K. Weiße	Kinderheilkunde

Ehrenwörtliche Erklärung

Ich erkläre ehrenwörtlich, daß ich die der Medizinischen Fakultät Frankfurt/Main zur Promotionsprüfung eingereichte Arbeit mit dem Titel
HÄMAGGLUTINATIONSREAKTION MIT HÜHNERYTROZYTEN

BEI LEBERKRANKHEITEN UND VERSCHLUSSIKTERUS

im Elisabethenstift- Medizinische Klinik zu Darmstadt

unter Leitung von Herrn Professor Dr. med. W. Siede ohne sonstige Hilfe selbst durchgeführt und bei der Abfassung der Arbeit keine anderen als die in der Dissertation angeführten Hilfsmittel benutzt habe.

Darmstadt, den 18. 7. 1966

Anton Reuz

